

17

24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

“ALTERACIONES DEL SUEÑO PROVOCADAS
POR LA INHALACION DE OZONO”

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
BLANCA MARGARITA BAZAN PERKINS

FALLA DE ORIGEN

México, D. F.

Octubre 1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
1. EL SUEÑO	
ELECTROENCEFALOGRAMA.....	5
COMPONENTES ANATOMICOS Y BIOQUIMICOS DEL SUEÑO.....	8
a) VIGILIA.....	8
b) SUEÑO DE ONDAS LENTAS.....	10
c) SUEÑO PARADOJICO.....	11
d) AGENTES QUE AFECTAN AL SUEÑO.....	13
2. EL OZONO.....	14
EFECTOS BIOLÓGICOS DEL OZONO.....	16
a) EFECTO SOBRE LAS VIAS RESPIRATORIAS.....	18
b) EFECTO SOBRE LAS FUNCIONES RESPIRATORIAS.....	19
c) EFECTO SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO.....	20
d) EFECTO SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	23
HIPOTESIS.....	24
OBJETIVOS.....	25
METODO.....	26
RESULTADOS.....	35
DISCUSION.....	52
CONCLUSIONES.....	57
AGRADECIMIENTOS.....	58
BIBLIOGRAFIA.....	59

RESUMEN

Se sabe que el ozono altera la permeabilidad de la membrana celular al inducir cambios bioquímicos y morfofisiológicos en el aparato respiratorio, en el sistema cardiovascular así como en el sistema nervioso, al modificar la excitabilidad neuronal. La concentraciones superiores a 0.3 ppm de ozono inducen el incremento en la actividad de las monoamino oxidasas, y disminuye la actividad de la acetilcolinesterasa así como la cantidad de serotonina, noradrenalina y adrenalina del cerebro. Estas alteraciones producidas por el ozono podrían modificar los mecanismos de mantenimiento del sueño de ondas lentas e inhibir a los mecanismos generadores del sueño paradójico; así mismo se ha reportado que la exposición a concentraciones de ozono menores a 0.2 ppm no producen cambios significativos en los estados de sueño. Con el propósito de evaluar la influencia del ozono en los estados del sueño se implantaron, mediante anestesia general, 3 gatos machos adultos (3.5 a 4 Kg) con electrodos bipolares convencionales para el registro de sueño. Transcurrido un período de recuperación post-operatorio y tras su habituación a una cámara de registro electrográfico, provista de aire depurado de contaminantes, se realizaron registros electrográficos control de 24 horas. Para las condiciones experimentales, en la cámara de registro se dispuso de una entrada adicional para la inyección de ozono. Las concentraciones se ajustaron por medio de llaves de paso conectadas a un extractor de aire. Una vez estandarizado el sistema se realizaron registros polisomnográficos de 24 horas con 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono, a intervalos de 15 días respectivamente para cada condición. Las concentraciones se determinaron antes y después del experimento por medio del burbujeo del aire de la cámara de registro a una solución de yoduro de potasio que se midió espectrofotométricamente en el intervalo de los 352 nm. Los resultados, evaluados en relación a los registros control previos a la exposición de ozono, muestran que las concentraciones de 1.0 y 1.5 ppm de ozono decremantan

significativamente ($p < 0.01$) el porcentaje en minutos y número de episodios de sueño paradójico durante las 24 horas de exposición; en las primeras 8 horas de registro, disminuyó significativamente ($p < 0.01$) el porcentaje en minutos y el número de episodios del sueño paradójico en todas las concentraciones suministradas; en este mismo intervalo de tiempo, obtuvimos un incremento significativo ($p < 0.05$) de los porcentajes de la vigilia con 0.5 y 1.5 ppm de ozono; mientras que la inhalación de 1.5 ppm indujo el incremento significativo ($p < 0.05$) del número de episodios del sueño de ondas lentas y de la vigilia; después de haber transcurrido 8 horas de exposición con 1.5 ppm de ozono, se registró un incremento significativo ($p < 0.05$) en los porcentajes de sueño de ondas lentas, a expensas del decremento ($p < 0.01$) del sueño paradójico.

Nuestros resultados sugieren que el ozono produce alteraciones del sueño directamente proporcionales a las dosis suministradas. Este efecto se observa principalmente en las primeras 8 horas de exposición. Debido a las diversas manifestaciones toxicológicas producidas por el ozono en el organismo, sugerimos que estas podrían ejercer un efecto sinérgico, que resulta en alteraciones funcionales del sistema nervioso central. Es necesario que en un futuro se investigue acerca de la duración temporal de estos efectos, así como de los mecanismos que lo inducen.

INTRODUCCION

La actividad eléctrica del encéfalo se describió desde el siglo XIX, sin embargo fué hasta 1924 que se analizó sistemáticamente por Hans Berger, quien introdujo el término de electroencefalografía para denotar el registro de las variaciones eléctricas recogidas del encéfalo. El registro electroencefalográfico se obtiene por medio de la colocación de electrodos sobre la superficie del cráneo o dentro del encéfalo. Se han observado (Hess y col, 1953) variaciones en la amplitud y la frecuencia de las oscilaciones electrográficas del encéfalo, que coinciden con las manifestaciones conductuales y fisiológicas correspondientes al sueño y la vigilia. Aunque en las aves, mamíferos y algunos reptiles las oscilaciones electrográficas presentan diferencias dependientes del grupo filogenético al que pertenecen (Jouvet, 1967), coinciden en la presencia de dos estados alternantes del sueño: el sueño de ondas lentas (SOL) y el sueño con movimientos oculares rápidos, o sueño paradójico (SP). Se ha postulado (Delorme y col, 1964; Sterman y col, 1965) que ambos estados son constantes biológicas con mecanismos independientes de activación y de mantenimiento. Debido a estas características, el sueño es un índice de los mecanismos homeostáticos del cerebro.

Se han reportado cambios en el sueño inducido por el consumo de diversas sustancias que han sido referidas también por sus efectos neurotóxicos (Contreras y col, 1978; Arito y col, 1988). Experimentalmente se ha establecido que el ozono es capaz de afectar al sistema nervioso central. Tepper y colaboradores (1982, 1985) Tepper y Weiss (1986) en una serie de estudios reportan alteraciones en la conducta de las ratas expuestas de 0.12 a 0.5 partes por millón (ppm) de ozono. Trams y colaboradores (1972) y Skillen y colaboradores (1961), demostraron que la exposición de 1 a 6 ppm de ozono decremantan el metabolismo de las catecolaminas y de la serotonina cerebral.

Por otro lado, Gordon y colaboradores (1981) y P'an y Jergier (1970) reportan que la inhalación de 0.3 a 0.8 ppm de ozono inhiben la actividad de la acetilcolinesterasa cerebral. A pesar de que se ha reportado que la inhalación de concentraciones menores a 0.2 ppm de ozono durante 5 días no produce variaciones significativas en el sueño de ratas (Arito y col., 1990), las evidencias experimentales antes mencionadas afirman que concentraciones por arriba de 0.3 ppm de ozono inducen modificaciones en sustancias que ya han sido implicadas en la regulación del sueño (Cordeau y col., 1963; Jouvet, 1969; Vanni-Mercier y col., 1989).

Por otro lado, en la literatura se ha establecido la cantidad de vigilia, sueño de ondas lentas y sueño paradójico presentes en 24 horas de registro electroencefalográfico del gato (Delorme y col., 1964; Serman y col., 1965) y, de hecho es el mamífero que mas ampliamente se ha utilizado para estudios de sueño. Por lo anterior sugerimos un paradigma para demostrar que el ozono induce alteraciones del sueño mediante la exposición de 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono durante el registro electroencefalográfico del gato por 24 horas.

1. EL SUEÑO

ELECTROENCEFALOGRAMA

El encéfalo genera gran variedad de oscilaciones eléctricas como producto de la regulación y procesamiento de la información endógena y exógena del organismo. Durante la vigilia estas oscilaciones presentan una amplitud aproximada de 50 μv (Hess y col, 1953). Se ha descrito que en reposo y en ausencia de estímulos sensoriales, las oscilaciones electrográficas manifiestan frecuencias sincrónicas de 5 a 8 Hertz (Hz) en el gato y de 8 a 12 Hz en el humano conocidas como ritmo alfa (Jouvet, 1967). Cuando el nivel de atención aumenta se generan oscilaciones irregulares que se correlacionan con el estado de atención. A este efecto desincronizante se le ha denominado reacción de despertar o bloqueo alfa. Sin embargo si lo que aumenta es la actividad física, las oscilaciones electrográficas presentan frecuencias sincrónicas de 4 a 7 Hz denominadas ritmo theta (Austt y Baños, 1979). Es de hacer notar que la actividad física de la vigilia produce un tono muscular alto que se puede registrar electrográficamente (Jouvet, 1967).

El registro de las oscilaciones electrográficas del SOL se caracteriza por husos de sueño y el ritmo delta sincrónico, que en el gato es de 12 a 18 Hz ó de 8 a 16 Hz (Hess y col, 1953; Jouvet, 1962). Conforme avanza el sueño, estos husos se entremezclan con oscilaciones electrográficas lentas (1 a 3 Hz) de alto voltaje (100 a 200 μv) que predominan en la corteza asociativa y frontal, tálamo medial, hipocampo y formación reticular (FR) pontina y mesencefálica (Jouvet, 1967). Conjuntamente con estas manifestaciones, se ha observado que la respiración se torna profunda y lenta, mientras que la presión arterial disminuye. El SOL en los gatos se caracteriza por la postura semejante a la esfinge, recargado sobre el vientre, con la cabeza levantada y los ojos cerrados; conforme avanza el

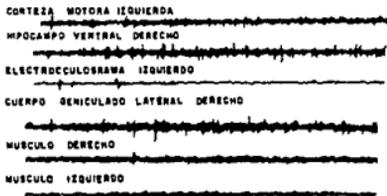
sueño, la cabeza desciende progresivamente hasta alcanzar el piso (Jouvet y col, 1959; Jouvet, 1962).

Por otro lado, las oscilaciones electrográficas corticales desincronizadas (20 a 30 Hz) y de baja amplitud, paradójicamente similares a los de la vigilia, son características del SP (Hess y col, 1953). Jouvet (1962) describió persistencia de ritmo theta en el hipocampo de gatos durante el SP; mientras que, Aserinsky y Kleitman (1955) reportaron la ocurrencia esporádica de movimientos oculares rápidos (MOR) en humanos durante este estado. Posteriormente se descubrió que los MOR se relacionan con espigas monofásicas de gran amplitud (200 a 300 μ v) que se registran en la FR pontina, el núcleo geniculado lateral y a nivel de la corteza occipital (Jouvet y col, 1959), a esta actividad se le denomina potenciales PGD. Por otro lado, el SP se caracteriza por la atonía de los músculos antigravitatorios (Jouvet, 1967; Jouvet y Michel, 1959) (Figura 1); y con relación al sistema vegetativo se ha reportado que la frecuencia cardíaca y respiratoria se vuelven irregulares, mientras que la presión arterial tiende a incrementarse (Jouvet, 1962; Rossi y col, 1963).

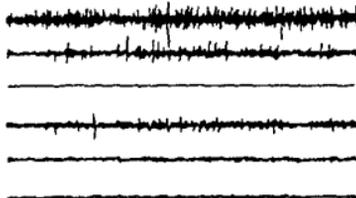
El registro electroencefalográfico del gato se ha caracterizado ampliamente. En esta especie (Felis catus) en condiciones de laboratorio se han observado polifases alternantes de sueño-vigilia, con predominancia del sueño diurno (Delorme y col, 1964; Sterman y col, 1965). Durante el registro electroencefalográfico continuo de 24 horas se han obtenido los siguientes valores: la cantidad de sueño total promedio es de 58 % a 68.5 % (Sterman y cols, 1965; Delorme y col, 1964). De este total, el SOL ocupa el 52.5 % y el SP el 16 % (Delorme y col, 1964). La frecuencia promedio en que ocurren estos estados es de 107.2 veces para el SOL y 37 para el SP (Sterman y col, 1965). La duración promedio reportada es de 5.6 minutos para el SOL, 5.4 minutos para el SP y 3.8 minutos para la vigilia (Delorme y col, 1964).



VIGILIA



SUEÑO DE ONDAS LENTAS



SUEÑO PARADÓJICO

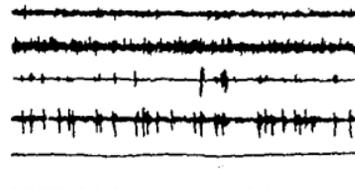


FIGURA 1 Representación electrográfica y conductual
del ciclo sueño-vigilia del gato.

COMPONENTES ANATOMICOS Y BIOQUIMICOS DEL SUEÑO

Las bases de los mecanismos neurofisiológicos del sueño surgieron con los estudios de Pieron en 1913 (en Borbely y Tobler, 1989) quienes reportaron el efecto hipnotóxico de fluidos raquídeos causado por acumulación de productos metabólicos y neurohumorales del sueño; mientras que von Economo en 1930 (en Nauta, 1946) reportó que los enfermos de encefalitis letárgica con insomnio persistente presentaban lesiones en el área del hipotálamo anterior, mientras que las lesiones del área posterior del hipotálamo caracterizaban a los pacientes somnolientos. Estos hallazgos fueron confirmados experimentalmente por Sterman y Clomente (1962), Nauta (1946) y Hernández-Pedón y colaboradores (1963). Por otra parte, Bremer (1935a, 1935b) observó que la sección tallo-medular en los gatos (encéfale isolé) producía oscilaciones electrográficas sincrónicas corticales, interrumpidas por breves períodos de alerta (Figura 2A), mientras que en la sección mesodiencefálica (cerveau isolé) las oscilaciones siempre eran sincrónicas (Figura 2B). Con estas observaciones, Bremer dedujo que los mecanismos reguladores del sueño y la vigilia se localizan en el tallo cerebral. Debido a que en el sueño y la vigilia participa un sistema muy complejo, se carece aún de una teoría que integre los mecanismos que intervienen en su génesis y regulación.

a) VIGILIA

La estimulación con alta frecuencia (100 a 300 Hz) de la FR mesencefálica y de los núcleos de proyección inespecífica del tálamo, produce desincronización de las oscilaciones electrográficas corticales y despierta a un animal dormido o anestesiado; mientras que, la lesión de la FR mesencefálica suprime a la desincronización (Moruzzi y Magoun, 1949;

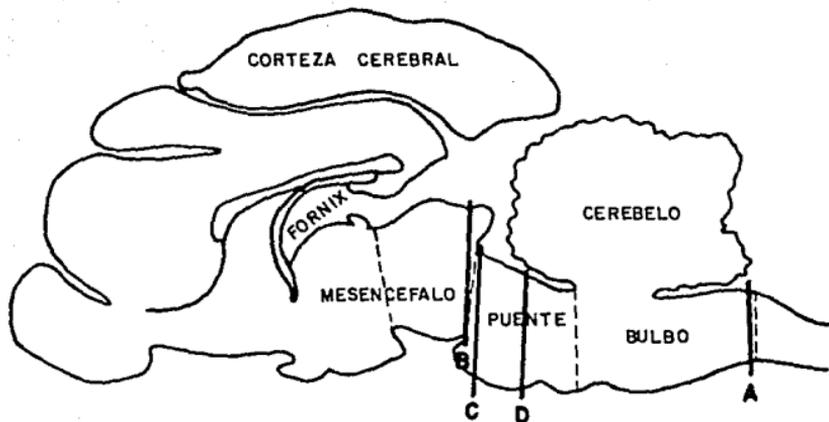


FIGURA 2 Representación sagital del tallo cerebral del gato. A) "encéfale isolé", B) "cerveau isolé", C) sección rostrópontina y D) sección medio pontina pretrigeminal.

Villablanca y Salinas Ceballos, 1972). Moruzzi y Magoun (1949) sugirieron el concepto de sistema reticular activador ascendente para denominar a la influencia activadora ascendente que estimula a la corteza induciendo desincronización y la reacción de despertar.

Debe hacerse notar que la reacción de despertar y la desincronización de las oscilaciones electrográficas no siempre coexisten. La estimulación sensorial puede producir despertar sin oscilaciones desincronizantes con la lesión del tegmento mesencefálico (Jouvet, 1962; Batini y col, 1959).

Por otro lado, se ha reportado que la lesión de la parte dorsal del núcleo reticularis pontis oralis, suprime la aparición de las manifestaciones electrográficas y conductuales correspondientes a la vigila, por lo cual se ha sugerido que este núcleo participe en la regulación de este estado (Jouvet, 1962; Camacho-Evangelista y Reinoso-Suarez, 1964).

Las investigaciones realizadas con el propósito de conocer la relación entre los diferentes neurotransmisores y la vigilia han establecido que la administración de noradrenalina y acetilcolina en el sistema activador reticular ascendente, inducen desincronización y reacción de despertar (Hernández-Peón y col, 1963; Cordeau y col, 1963).

b) SUEÑO DE ONDAS LENTAS

La eliminación de la influencia bulbar en el encéfalo así como la lesión del núcleo del tracto solitario y del área preóptica suprimen las manifestaciones electrográficas y conductuales correspondientes al SOL; mientras que la estimulación a bajas frecuencias del núcleo del tracto solitario y del área preóptica inducen la aparición de oscilaciones electrográficas sincrónicas y ondas lentas en la corteza (Magnes y col, 1961; Cordeau y Mancia, 1959; Bonvallet y Allen, 1963; McGinty y Sterman, 1968; Sterman y Clemente, 1962); además, las descargas de las neuronas del área preóptica se incrementa durante el SOL (Ogawa y

Kamamura, 1988).

El registro de las oscilaciones electrográficas sincrónicas del SOL es idéntico cuando se obtiene simultáneamente en la corteza y en el tálamo (Peñalosa-Rojas y col, 1964); así mismo, la estimulación talámica induce la aparición de las oscilaciones electrográficas sincrónicas corticales correspondientes al SOL (Hess y col, 1953). Por otro lado, la ablación total de la corteza suprime la manifestación de husos de sueño y ondas lentas en el tálamo (Jouvet, 1962); mientras que la talamotomía o la lesión del núcleo dorso-medial talámico, inducen tanto la desaparición de las ondas lentas en la corteza como de las manifestaciones conductuales características del SOL en el gato (Villablanca y Salinas-Ceballos, 1972; Marini y col, 1988). Se ha demostrado que las oscilaciones electrográficas sincrónicas del tálamo, tienen la influencia de la actividad originada en el bulbo (Bonvallet y Bloch, 1961; Moruzzi, 1963); sin embargo, actualmente se desconoce el mecanismo por el cual se regula la participación de estas estructuras para la generación del SOL.

Jouvet (1969) propuso una relación directa entre la lesión de los núcleos serotoninérgicos del rafé con la disminución del SOL; sin embargo, la administración del L-5-hidroxitriptofano (precursor directo de la serotonina) no produce efectos significativos en el SOL (Polc y col, 1979). Por otro lado, las descargas de las neuronas del rafé son menores durante el SOL que durante la vigilia: McGinty y Harper (1976) y Lydic y colaboradores (1987), demostraron que esas descargas contribuyen al mantenimiento de la vigilia.

c) SUEÑO PARADOJICO

Se ha reportado que las diferentes manifestaciones del SP se interrumpen con la sección del puente anterior (Figuras 2B y 2C) (Batini y col, 1958; Rossi y col, 1963; Jouvet, 1962, 1979). Así mismo, la estimulación específica del tegmento mesencefálico, el locus coeruleus (LC), el núcleo reticularis pontis caudalis y el

campo pontino gigantocelular, inducen la aparición de los aspectos electrográficos y conductuales del SP, siempre y cuando se efectúe durante el SOL. (Rossi y col, 1961; Vanni-Mercier y col, 1989; Jones, 1979). Por lo tanto, se sugiere que la región encefálica implicada en la desincronización cortical del SP, esta comprendida entre el puente anterior y el mesencéfalo posterior.

Durante el SP las oscilaciones electrográficas manifiestan dos aspectos básicos: el tónico y el fásico (Moruzzi, 1964):

ASPECTOS TONICOS: Además de la desincronización cortical, tónicamente se observan durante el SP el ritmo theta hipocámpico y la atonía muscular.

La lesión del septum y del tegmento pontino dorsal, suprimen la aparición del ritmo theta durante el SP; mientras que la estimulación del LC, peri-LC alfa, y de la FR bulbar, facilitan su aparición (Jouvet, 1962; Vanni-Mercier y col, 1989).

Por otro lado, la lesión del bulbo medial, del núcleo reticularis pontis caudalis y del tegmento pontino dorsal, inhiben la atonía muscular durante el SP, mientras que la estimulación de la FR ventral al peri-LC alfa, induce atonía aún en vigilia (Jouvet, 1962; Schenkel y Siegel, 1989; Vanni-Mercier y col, 1989).

ASPECTOS FASICOS: Los aspectos fásicos mas evidentes del SP son los MOR y los potenciales PGO.

La ablación de la corteza occipital decremanta la cantidad de MOR durante el SP, mientras que la lesión de la corteza frontal, así como la cerebelectomía total, producen aumento en la densidad y amplitud de los MOR (Jouvet, 1962; Paz y col, 1985).

Por otro lado, los potenciales PGO se puede suprimir al lesionar el tegmento pontino lateral, y se manifiestan cuando cesan las descargas de las neuronas del nucleo rafé dorsal, o al estimular colinérgicamente al campo tegmental giganto y magnocelular así como al peri-LC alfa (Hydic y col, 1987; Jouvet, 1967; Vanni-Mercier y col, 1989).

Los estudios encaminados con el propósito de conocer los mecanismos neuroquímicos que intervienen en el SP, indican que la

inhibición del catabolismo de las monoaminas, catecolaminas y serotonina, la acetilcolina así como de la hormona del crecimiento, impiden la aparición del SP (Jouvet, 1969; Vanni-Mercier y col, 1989; Pastel y Fernstrom, 1987; Takahashi y col, 1968; Sassin y col, 1969); mientras que su administración lo incrementa en forma proporcional a las dosis suministradas (Drucker-Colin y col, 1975; Jouvet, 1969). Por otro lado, la somatostatina y el polipéptido intestinal vasoactivo han sido referidos por su efecto generador de SP (Danguir, 1986; Próspero-García y col, 1986).

Como hemos visto, el sueño es susceptible de ser modificado por diferentes sustancias que incluyen algunas no identificadas provenientes del líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, se ha propuesto que estas sustancias mantienen un mecanismo en común relacionado con cambios en los niveles de excitabilidad neuronal del tallo cerebral (Drucker-Colin y Próspero-García, 1990).

d) AGENTES QUE AFECTAN AL SUEÑO

Se ha postulado que la administración de fármacos así como la inhalación de solventes industriales modifican al sueño, pero aunque los efectos centrales se reconocen, la evidencia experimental en la naturaleza intrínseca del sueño es limitada.

La administración de antidepresivos tricíclicos, anticonvulsivantes, benzodiacepinas, barbitúricos, psicotrópicos, hipnóticos, así como el litio y el etanol tienen como efecto la disminución del SP, muchas veces sin alterar a la vigilia o al SOL (Kay y col, 1972, 1976; Polc y col, 1979; Fernández-Guardiola y col, 1972; Contreras y col, 1978a). Se sugiere que estas sustancias pueden participar en el metabolismo de la serotonina y noradrenalina, pues inducen el mismo efecto supresor de SP que los inhibidores de las monoamino-oxidasas y precursores serotoninérgicos (Jouvet, 1969; Polc y col, 1979).

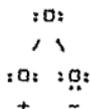
Por otro lado se ha postulado que la inhalación crónica de nitrógeno, tolueno, tiner, metanol o dióxido de carbono, induce

alteraciones neuropsicológicas. La evolución de estas alteraciones se inicia conductualmente con euforia caracterizada por oscilaciones electrográficas corticales desincronizadas y la ausencia de sueño; posteriormente se presenta un estado de depresión motora, somnolencia persistente y oscilaciones electrográficas sincrónicas (Laszy y Sarkadi, 1990; Mergirian y col, 1980; Gastaut y col, 1961; Arito y col, 1988a, 1988b; Contreras y col, 1978b; Kira y col, 1988).

Pocos agentes contaminantes del aire han sido estudiados en relación con el sistema nervioso central. El monóxido de carbono produce los mismos efectos neurotóxicos que la hipoxia, incluso daños cerebrales irreversibles (Plaa, 1987; Thorpy, 1990). El ozono también produce trastornos neurotóxicos que serán descritos a continuación, sin embargo, como en el caso del monóxido de carbono, no se han reportado alteraciones del sueño producido por su inhalación aunque sea un agente neurotóxico (USEPA 1986, 1988).

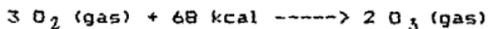
2. EL OZONO

El ozono es una molécula consistente en tres átomos de oxígeno:



Como resultado de la presencia de seis electrones en uno de sus átomos, el ozono produce reacciones electrofílicas; esto es, que remueve electrones de otras moléculas o iones. El ozono es, de hecho, uno de los agentes oxidantes más reactivos de la naturaleza. Las propiedades físicas del ozono se condensan en la tabla I.

El ozono se genera en la estratósfera donde forma la "capa de ozono", entre 15,000 a 30,000 metros sobre el nivel del mar, mediante la siguiente reacción:



ESTADO FISICO

(gas).....INCOLORO

(líquido).....VIOLETA-AZUL

FORMULA QUIMICA.....O₃

PESO MOLECULAR.....48.0

PUNTO DE FUSION.....-192.7+/-0.2°C

PUNTO DE EBULLICION.....-111.9+/-0.3°C

GRAVEDAD ESPECIFICA EN EL AIRE.....1.658

SOLUBILIDAD A 0°C

(Volumen de ozono a 0°C y 1 atm).....0.494 ml/100 ml de agua

FACTOR DE CONVERSION

(A 0°C, 1 atm).....1 ppm= 2141 µg/m³

(A 25°C, 1 atm).....1 ppm= 1962 µg/m³

POTENCIAL STANDARD.....+ 2.07 volts

TABLE 1. Propiedades físicas del ozono. Tomado de Bravo y colaboradores, 1988.

Las potentes fuentes de energía como la eléctrica y la radiante de alto poder, presentes en este estrato atmosférico, pueden explicar la producción de grandes cantidades de ozono. Sin embargo, en la tropósfera (0 a 11,000 metros sobre el nivel del mar), el ozono no se produce como en la estratósfera, debido a la poca cantidad de luz ultravioleta que logra pasar a través de la capa de ozono. El ozono troposférico se genera a partir de un ciclo complejo de reacciones donde intervienen los hidrocarburos reactivos (NMHC) y los óxidos de nitrógeno (NOx), ambos emitidos principalmente por combustión de gasolinas (Figura 3) que incluye además muchos factores como la intensidad y el espectro de la luz solar, las condiciones meteorológicas y la concentración de los precursores del ozono en el aire ambiental. Normalmente, la descomposición del ozono al oxígeno es muy lenta, pero su velocidad crece con rapidez al ascender la temperatura, o en presencia de un catalizador (USEPA, 1986).

EFFECTOS BIOLÓGICOS DEL OZONO

Los efectos tóxicos del ozono en los seres vivos se atribuyen a su alta capacidad oxidante (USEPA, 1986). Menzel (1970) y Goldstein y colaboradores (1969), postularon que el ozono libera radicales en el organismo que directa o indirectamente modifican la configuración molecular de las proteínas (Menzel y Wash, 1971; Scheel y col, 1959; Rasmussen y Bhalla, 1989) y, por otro lado, provocan la peroxidación de los lípidos (Goldstein y Balchum, 1967; Shelley y col, 1989), que alteran la permeabilidad de la membrana citoplasmática y producen cambios en la respuesta celular (Koren y col, 1989; Boatman y col, 1974; Ryer-Powder y col, 1988; Xintaras y col, 1976).

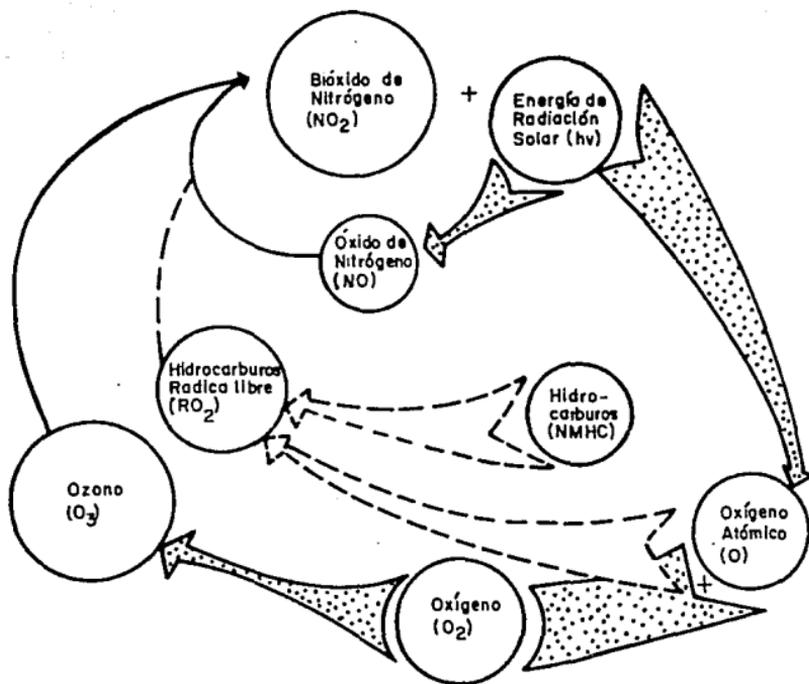


FIGURA 3 Diagrama de la generación del ozono troposférico. El ciclo se inicia cuando la radiación ultravioleta (3,000 a 4,000 Å) fotoliza al bióxido de nitrógeno y forma monóxido de nitrógeno y oxígeno atómico. Este átomo reacciona con la molécula de oxígeno atmosférico y produce el ozono. El bióxido de nitrógeno y oxígeno molecular son generados por la reacción del monóxido de nitrógeno y el ozono. La presencia de hidrocarburos reactivos en la atmósfera induce una reacción más intensa que provoca que los niveles de ozono se incrementen considerablemente. (Tomado de Bravo y col, 1988)

A continuación se presenta una revisión de los principales efectos biológicos producidos por la inhalación de ozono en los mamíferos.

a) EFECTO SOBRE LAS VIAS RESPIRATORIAS

La velocidad y magnitud de las respuestas morfofisiológicas producidas por la inhalación del ozono dependen de la concentración administrada; así mismo, las reacciones tóxicas pueden diferir de una manera cualitativa según dure la exposición. Una sola exposición, o las exposiciones múltiples que ocurren durante uno o dos días, representa una exposición aguda. Las exposiciones múltiples que prosiguen durante un período más prolongado representa una exposición crónica:

EXPOSICION CRONICA: Se ha reportado que la inhalación de 0.25 a 1.5 ppm de ozono produce alteraciones en la organización de las inclusiones citoplasmáticas, necrosis, devastación ciliar e incremento en las funciones mucociliares del tejido apical del tracto respiratorio (Bhalla y col, 1988; Rasmussen y Bhalla, 1989; Nikula y col, 1988; Foster y col, 1987; Boatman y col, 1974; Reiser y col, 1987). También se ha encontrado infiltración de albumina, eosinófilos, neutrófilos y leucocitos polimorfonucleares; así como proliferación de macrófagos y depositación irreversible de colágena en los alveolos pulmonares (Bascom y col, 1990; Koren y col, 1989; Barry y col, 1988). Con estas concentraciones de ozono también se ha reportado lisis de eritrocitos y rompimiento del endotelio alveolar en los capilares alveolares (Boatman y col, 1974; Watanabe y col, 1973). Sin embargo, no se modifica la oxigenación arterial en humanos y en ratas, aunque si disminuye la presión sanguínea, la capacidad de difusión y la presión parcial del bióxido de carbono lo que provoca bradicardia y arritmia (Linn y col, 1979; Watanabe y col, 1974; Tepper y col, 1990; Arito y col, 1990).

EXPOSICION AGUDA: La exposición a concentraciones mayores de 1.8 ppm de ozono induce edema con infiltración de linfocitos, células epiteliales y antioxidantes como el glutatión y la superóxido dismutasa en las vías respiratorias (Hiroshima y col, 1987; Tepper y col, 1989; Aizawa y col, 1985). En los pneumocitos tipo II, se incrementa considerablemente la cantidad de vacuolas, producto de la acumulación masiva de lactato deshidrogenasa y proteínas infiltradas, que, aunado a la inhibición de la producción de fosfatidilcolina, resulta en una devastación del factor surfactante alveolar (Shelley y col, 1989; Aizawa y col, 1985; Basset y col, 1988; Hiroshima y col, 1987; van Bree y col, 1988). La regeneración del tejido pulmonar se presenta entre 24 y 96 horas después de iniciada la exposición, aunque los efectos más drásticos de la inhalación de ozono se registran a las 48 horas de exposición y su magnitud depende de la concentración utilizada (Shelley y col, 1989; Hiroshima y col, 1987; Horvath y col, 1981; Schonfeld y col, 1989; Farrell y col, 1979; Arito y col, 1990).

b) EFECTO SOBRE LAS FUNCIONES RESPIRATORIAS

Se ha determinado que la inhalación de 0.12 a 0.5 ppm de ozono disminuye el volumen de expiración forzada en 1 segundo, la capacidad vital forzada, la tasa de flujo expiratorio forzado, la capacidad inspiratoria, la resistencia pulmonar, y la frecuencia respiratoria. Estos efectos han sido observados tanto en niños como en adultos, independientemente del sexo y de la forma de inhalación (oral o nasal) (Spektor y col, 1988a; Folinsbee y col, 1977; Farrell y col, 1979; Hazucha, 1987; Gliner y col, 1983; Hynes y col, 1988; Linn y col, 1988; Horvath y col, 1981). Sin embargo, el ejercicio puede incrementar la magnitud de éstas alteraciones, aunque los individuos que se ejercitan periódicamente son los menos afectados (McDonnell y col, 1983; Spektor y col, 1988b). Por otro lado, se ha demostrado que las concentraciones por arriba de 0.18 ppm acentúan los efectos antes

referidos dependiendo de la estación del año (Linn y col, 1988; McDonnell y col, 1985, 1983; Schonfeld y col, 1989).

La administración de 0.26 a 1.0 ppm de ozono durante 1 hora en gatos, ratas y perros, induce incremento de la frecuencia respiratoria, la resistencia pulmonar y aumenta el tiempo de expiración e inspiración respiratoria (Watanabe y col, 1973; Tepper y col, 1990; Lee y col, 1979).

Se ha reportado que los efectos del ozono se pueden atenuar con la pre-exposición a bajas concentraciones. Así, la inhalación frecuente de ozono ambiental (0.12 ppm) reduce la respuesta inducida por la inhalación de 0.18 ppm de ozono (Linn y col, 1988). Sin embargo la pre-exposición a 0.2 ppm de ozono por 2 horas y durante 3 días, no altera la respuesta de las funciones pulmonares con 0.5 ppm de ozono (Gliner y col, 1983).

Por otro lado, la exposición continua de 0.35 a 0.5 ppm de ozono en humanos y en ratas durante 5 días, acentúa el decremento de las funciones pulmonares principalmente en el segundo día de exposición (Tepper y col, 1989; Schonfeld y col, 1989; Farrell y col, 1979; Horvath y col, 1981).

c) EFECTOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO PERIFERICO

La inhalación de ozono facilita la constricción bronquial inducida por inhalación de acetilcolina, histamina, serotonina y KCl hasta 8 días después de la exposición (Holtzman y col, 1983). Sin embargo, se desconoce el mecanismo por el cuál el ozono produce este efecto. Por un lado Jones y colaboradores (1988), sugieren que la constricción bronquial es resultado de la inhibición del factor relajante del músculo liso derivado del epitelio que produce la inhalación de ozono; mientras que Aizawa y colaboradores (1985), indican que durante la respuesta inflamatoria pulmonar, se produce gran cantidad de prostaglandinas capaces de afectar a las neuronas post-ganglionares parasimpáticas (Jones y col, 1987). Por su parte, Beckett y colaboradores (1988), reportan que la

constricción bronquial se facilita aún en ausencia de células inflamatorias. Por último, también se ha sugerido que la facilitación de la constricción bronquial se realice mediante la estimulación directa del ozono en los receptores colinérgicos nicotínicos (Tepper y Weiss, 1986; O'Byrne y col, 1988; Beckett y col, 1985).

Se ha reportado que una concentración de 0.5 ppm de ozono produce el reflejo de la taquipnea (jadeo) mediante la estimulación directa el nervio vago (Tepper y Weiss, 1986; Lee y col, 1979); y por otro lado, 5 ppm de ozono durante 1 a 3 horas facilita la respuesta del nervio trigémino al alcohol amílico (Kulle y Cooper, 1975).

d) EFECTOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

Diversos estudios sugieren que el ozono es una agente tóxico del sistema nervioso central:

Trams y colaboradores (1972) reportaron que 1 ppm de ozono durante 7 a 24 horas/día por 18 meses, induce disminución de la noradrenalina, adrenalina y catecol-o-metiltransferasa de la corteza cerebral de perros; mientras que, Skillen y colaboradores (1961) reportan que la inhalación de 6 ppm de ozono durante 4 horas disminuye la cantidad de serotonina cerebral en ratas anestesiadas. Además, se ha observado que la actividad de la monoamina-oxidasa cerebral se incrementa entre las primeras 8 a 16 horas de exposición, pero a las 24 horas decrece significativamente (Trams y col, 1972). Por otro lado se ha reportado que la inhalación de 0.3 a 0.8 ppm de ozono inhibe la actividad de acetilcolinesterasa cerebral en ratas (Gordon y col, 1981; P'an y Jergier, 1970).

La exposición de 0.5 a 1.0 ppm de ozono durante 1 hora retarda la respuesta inducida por estimulación fótica en el colículo superior y la corteza occipital de la rata (Xintaras y col, 1966).

El efecto del ozono en las funciones integrativas del sistema

nervioso central ha sido sugerido principalmente con base en diferentes manifestaciones subjetivas (Schonfeld y col, 1989; Folinsbee y col, 1977; Farrell y col, 1979). Así, la inhalación crónica de ozono en ratas altera la conducta operante condicionada y disminuye la actividad motora de manera proporcional a las dosis suministradas (0.25 a 2.0 ppm), principalmente en la noche (Weiss y col, 1981; Tepper y Weiss, 1986; Tepper y col, 1982; Hiroshima y col, 1987; Tepper y col, 1985); mientras que, Tepper y Wood (1985) reportan que 0.5-24 ppm de ozono produce efectos irritantes que inducen conducta de escape en ratones.

Por otro lado Hore y Gibson (1968), reportan que la inhalación de 0.2 ppm de ozono en estudiantes universitarios de los Estados Unidos no induce modificaciones significativas en la respuesta a pruebas de inteligencia realizados por los investigadores. Por último Arito y colaboradores (1990) indican que la exposición de 0.1 y 0.2 ppm de ozono no induce cambios significativos en la cantidad de vigilia, SOL y SP en 12 horas de registro electroencefalográfico diario durante 5 días en ratas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha reportado que la administración de diversas sustancias referidas por sus efectos tóxicos sobre el sistema nervioso central inducen alteraciones del sueño; también se han reportado alteraciones en la neurotransmisión, en la conducta operante condicionada y en la actividad motora de perros y ratas expuestas al ozono (Contreras y col, 1978a; Arito y col, 1988a; Trams y col, 1972; Skillen y col, 1961; Tepper y col, 1982, 1985; Tepper y Weiss, 1986; Gordon y col, 1981; P'an y Jergier, 1970). Estos antecedentes sugieren que el ozono actúa como agente tóxico del sistema nervioso central; sin embargo, la administración de dosis bajas de este contaminante no modifica la arquitectura del sueño en la rata (Arito y col, 1990).

En el presente trabajo se valorará el efecto de la exposición de ozono en el sueño de los gatos, un vertebrado ampliamente utilizado en estudios de sueño, mediante el registro electroencefalográfico de 24 horas, con diferentes concentraciones de ozono comunmente referidas por su toxicidad sobre el sistema nervioso central.

HIPOTESIS

Si el ozono es capaz de alterar la bioquímica intrínseca del cerebro y este tipo de alteraciones, modifican el ciclo sueño-vigilia; entonces el ozono podría provocar alteraciones del sueño.

OBJETIVOS

Valorar el efecto del ozono en el ciclo sueño-vigilia de los gatos durante 24 horas de inhalación continua.

Conocer el efecto del ozono sobre el sueño en tres concentraciones diferentes: 0.5, 1.0 y 1.5 ppm.

Determinar la evolución de estos efectos mediante la fragmentación temporal de la exposición, con intervalos de 8 horas.

MÉTODOS

IMPLANTACION DE ELECTRODOS

Se utilizaron como sujetos de experimentación 3 gatos machos adultos, con pesos entre 3 y 4 Kg. Mediante anestesia general (30 mg/Kg iv de pentobarbital sódico) cada animal fué fijado al aparato estereotáxico por medio de dos barras introducidas en los conductos auditivos externos y barras de fijación facial. Después de la asepsia de la cabeza, se realizó una incisión de aproximadamente 7 cm en dirección antero-posterior a través de la región parietal, se retiró el músculo fascia epicraneal y el periostio. Posteriormente se realizó una trepanación en el cráneo para introducir electrodos bipolares de acero inoxidable con cubierta de teflón, para el registro de la actividad eléctrica en las siguientes estructuras: corteza postsigmoidea derecha, hipocampo ventral izquierdo y núcleo geniculado lateral derecho. La localización de estas estructuras fue mediante la utilización del atlas estereotáxico de Snider y Niemer (1961). Para el estudio de la actividad eléctrica del hipocampo, los electrodos fueron dirigidos a 8 mm por delante de la línea interaural y a 4 mm por abajo de este plano, así como a 11 mm hacia la izquierda del plano sagital; mientras que para el núcleo geniculado lateral, los electrodos fueron colocados a 6.5 mm por delante de la línea interaural y 3.5 mm por arriba de este plano, así como a 10.5 mm hacia la derecha del plano sagital. Además se colocaron electrodos en los bordes nasal y temporal del arco superciliar derecho para el registro de los movimientos oculares, así como electrodos insertados en el músculo de la nuca para el registro de la actividad electromiográfica. Se utilizó un tornillo fijado al cráneo como electrodo indiferente (Figura 4).

Los electrodos fueron soldados a un conector múltiple de referencia y fijados al cráneo mediante cemento acrílico. Finalmente, se suturó la incisión quirúrgica y se aplicó penicilina bencetacínica (1,200,000 u im) como medida profiláctica.

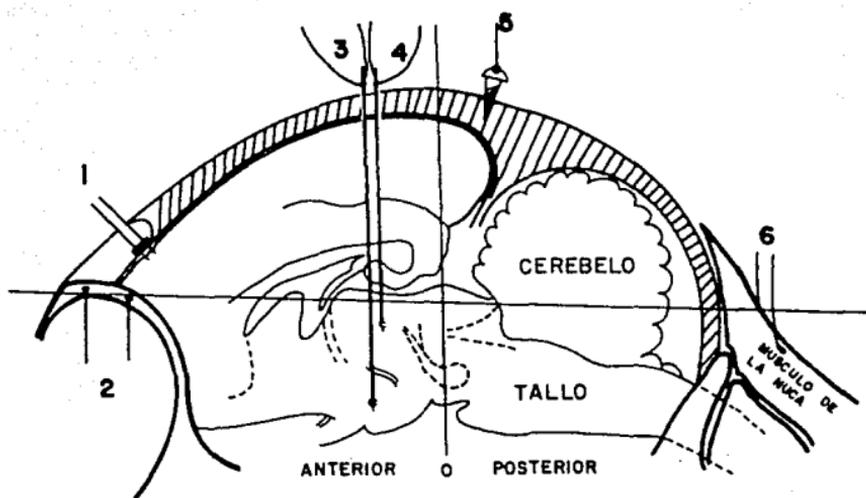


FIGURA 4 Diagrama del arreglo de electrodos en el cráneo del gato. 1. Electrodo bipolar en la corteza sensorio-motora; 2. Electrodo en el arco superciliar para el registro de los movimientos oculares; 3. Electrodo bipolar concéntrico en el hipocampo ventral; 4. Electrodo bipolar concéntrico en el cuerpo geniculado lateral; 5. Electrodo indiferente derivado a tierra y 6. Electrodo del músculo de la nuca.

REGISTRO POLISOMNOGRAFICO

Transcurrido un período de recuperación post-operatorio de 15 días, los gatos fueron habituados durante 4 días a una cámara de observación sono-amortiguada (80x60x60 cm) en donde se llevaron a cabo los registros polisomnográficos. La cámara cuenta con un dispositivo que conecta los electrodos a un polígrafo Grass 7BD, que permitió la libertad de movimientos del gato. Estos animales disponían dentro de la cámara de aire depurado de contaminantes (5 L/min), alimentos, agua y una caja de arena. En estas condiciones, para cada gato se efectuaron un mínimo de dos registros polisomnográficos control. Posteriormente, cada gato fue expuesto durante 24 horas continuas a 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono respectivamente con intervalos de 15 días; simultáneo a esta exposición se registraba la actividad polisomnográfica del gato. De esta manera, los experimentos se iniciaban de las 10:00 hrs am y terminaban a las 10:00 hrs am, del día siguiente. Antes de empezar y al terminar el experimento, se determinaba la temperatura y la concentración de ozono en la cámara.

GENERACION Y MEDICION DEL OZONO

Al aire libre de contaminantes se le agregó ozono generado en el laboratorio mediante el TRIOZON P-15, un aparato que genera ozono por descarga de energía eléctrica entre dos electrodos. Las concentraciones elegidas para nuestras condiciones experimentales fueron reguladas a partir de llaves de paso conectadas a un extractor de aire; esto facilitó la circulación de las partículas de ozono que se encontraban en la cámara que se distribuían conforme al flujo de aire. Transcurrido un período de aproximadamente 1.5 horas se obtuvo una concentración interna estable de 0.5, 1.0 o 1.5 ppm de ozono para las diferentes pruebas.

La concentración de ozono en la cámara de registro se determinó con el método de iodometría. El método fue desarrollado por

Littman y Benoliel en 1953 y modificado por Tokiwa y colaboradores en 1972 (en USEPA, 1986). Este método consiste en el burbujeo de aire a una solución al 10% de KI con una resolución de 0.01 ppm de ozono. Para la cuantificación de ozono se utilizaron las siguientes soluciones (Operation and service manual for mechanical series 1100, 1976; USEPA, 1986):

1. Solución absorbente:

En un litro de agua destilada se disolvieron 13.6 gr de fosfato diácido de potasio, 35.8 gr de fosfato de sodio dodecahidratado y 10.0 gr de ioduro de potasio. El pH de la solución se mantuvo en 6.8 +/- 0.2. La solución permanece estable por varias semanas si se almacena en un frasco ambar y en refrigeración.

2. Solución estándar de trióxido de arsénico (0.05 N):

En 25 ml de hidróxido de sodio 1 N se disolvieron mediante baño de vapor, 2.4 gr de trióxido de arsénico (previamente calentado a 105 °C durante 1 hora). Posteriormente, se aforó la solución a 1 litro con la adición lenta de ácido sulfúrico 1 N. El pH de la solución se mantuvo en 6.8 +/- 0.2.

3. Solución indicadora de almidón (0.2 %):

En 3 ml de agua se disolvieron 0.4 gr de reactivo de almidón (Beaker) y 2.0 mgr de ioduro de mercurio. Posteriormente se le adicionó lentamente a la solución 200 ml de agua hirviendo. Se siguió hirviendo hasta que la solución quedo translúcida. Se almacenó en un frasco ambar y en un lugar oscuro.

4. Solución estándar de yodo (0.05 N):

En 10 ml de agua destilada se disolvieron 5.0 gr de ioduro de potasio y 3.2 gr de yodo resublimado. Se aforó esta solución a 500 ml con agua destilada.

a) ESTANDARIZACION

A 20 ml de solución estándar de trióxido de arsénico (solución 2) se le agregó 1 ml de ácido sulfúrico (1:10), 2 gr de bicarbonato de sodio y 5 ml de solución indicadora de almidón (solución 3). Una vez disuelto, se tituló mediante la solución

estandar de yodo (solución 4) y se mantuvo en agitación hasta que cambio al color azul por 30 segundos. Con el resultado de la titulación se pudo obtener la normalidad del yodo:

$$20 \text{ ml} \times 0.05$$

$$I. \quad \text{Normalidad del yodo} = \frac{\text{-----}}{Z}$$

Z

donde:

20 ml = cantidad de trióxido de arsénico utilizado en la titulación.

0.05 = Normalidad del trióxido de arsénico.

Z = ml de yodo utilizado en la titulación.

b) CURVA DE CALIBRACION

Para realizar la curva de calibración se aforó 1 ml de solución estandar de yodo (solución 4) a 100 ml con solución absorbente (solución 1). Inmediatamente después se tomaron de esta solución 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 ml respectivamente y se aforaron a 25 ml con solución absorbente. Se determinó inmediatamente la absorbancia de estas soluciones a 352 nm (se usó como blanco a la solución absorbente). Las soluciones fueron preparadas individualmente y leídas a intervalos de 3 minutos cada una. Con los datos obtenidos se pudo graficar la absorbancia contra los microgramos de ozono:

$$II. \quad \text{Microgramos de ozono} = N (96) V$$

donde:

N = Normalidad del yodo (ver I) (miliequivalentes/ml).

V = Volumen de solución estandar de yodo (0.5, 1.0, 2.0, 3.0 ó 4.0 ml).

96 = Factor de conversión de miliequivalentes a microgramos.

Se obtuvo además la pendiente (m) y la ordenada de origen (b) de esta gráfica.

c) MUESTREO:

La cantidad de ozono en la cámara de registro se determinó con una bomba de muestreo (La motte chemical mod. RD) que inyectó el aire (1 L/min) proveniente de la caja de registro a 10 ml de solución absorbente (solución 1), durante 10 minutos (Figura 5). Inmediatamente después se transfirió la solución expuesta a una celda para determinar la absorbancia en los 352 nm, se utilizó como blanco la solución absorbente.

Para calcular la concentración de ozono en ppm se realizaron las siguientes operaciones:

$$\text{III. } V_r = V \times 1 \text{ atm} / P \times T \times 0.01$$

donde:

V_r = Volumen de aire en las condiciones de referencia (m³).

V = Volumen del aire en las condiciones de muestreo
(1 L/min x 10 min = 10 L).

P = Presión barométrica en las condiciones de muestreo
(1 atm).

T = Temperatura en las condiciones de muestreo (K).

0.001 = Conversión de litros a m³.

$$\text{IV. } X = \frac{Y - b}{m}$$

donde:

X = Microgramos de ozono.

Y = Absorbancia obtenida.

b = Ordenada de origen de la curva de calibración.

m = Pendiente de la curva de calibración.

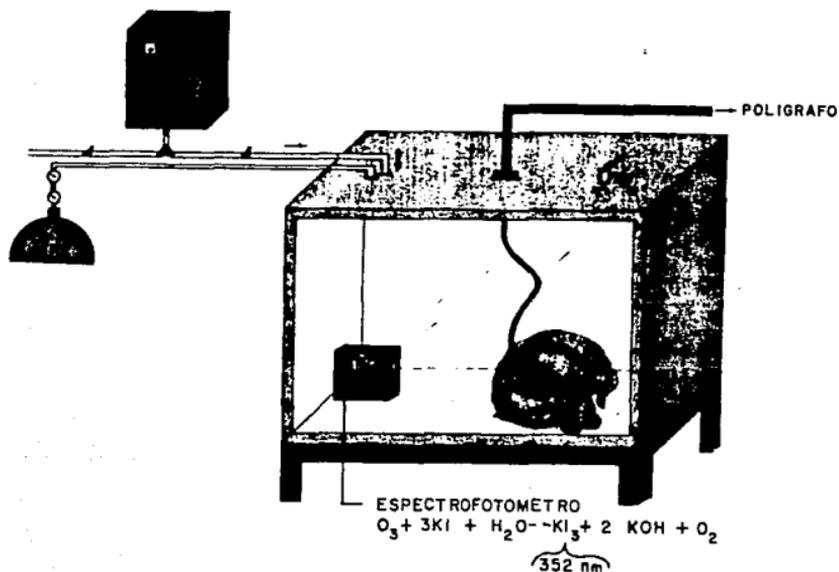


FIGURA 5 Diagrama del dispositivo diseñado para el registro de la actividad electroencefalográfica del gato, durante la exposición al ozono. El generador de ozono inyecta el gas en una entrada paralela a la administración del aire depurado de contaminantes. Dentro de la caja se realizan las mediciones de ozono mediante el método de iodometría. Una vez estandarizada la concentración de ozono, se conecta la señal electroencefalográfica del gato al polígrafo.

X

V. ppm de ozono = $\frac{X}{Vr} \times 0.00051$

Vr

donde:

X = Microgramos de ozono (ver IV).

Vr = Volumen de aire en las condiciones de referencia
(ver III).

0.00051 = Factor de conversión de $\mu\text{gr}/\text{m}^3$ a ppm.

EVALUACION DE RESULTADOS:

Los registros del sueño se calificaron de manera visual, utilizando el siguiente criterio:

La vigilia se caracterizó por la presencia de oscilaciones electrográficas desincronizadas de bajo voltaje en la corteza, la presencia de tono muscular y actividad ocular asociada con potenciales del núcleo geniculado lateral.

El SDL se caracterizó por la presencia de ondas lentas y husos de alto voltaje en la corteza, mantenimiento o decremento del tono muscular en relación a la vigilia, pocos movimientos oculares, potenciales ocasionales del núcleo geniculado lateral y ondas lentas en el hipocampo.

El SP se caracterizó por la desincronización del registro de la corteza, la ausencia de voltaje del electromiograma, movimientos oculares rápidos asociados a los potenciales del núcleo geniculado lateral y persistencia del ritmo theta del hipocampo.

El criterio mínimo para definir un cambio de estado fué que este permaneciera por un período mayor de 10 segundos.

Una vez cuantificados los registros polisomnográficos de 24 horas se determinó el porcentaje en minutos de la vigilia, el SDL y el SP; la latencia en la aparición del primer episodio del SP; el número de episodios de vigilia, SDL y SP y el promedio de la duración de los episodios individuales de la vigilia, SDL y SP. Posteriormente se observó la evolución de éste fenómeno mediante la fragmentación de las 24 horas en tres períodos de 8. El primer

período comprendió de las 10:00 hrs am a las 18 hrs pm, el segundo período fue de las 18:00 hrs pm a las 2:00 hrs am y el tercer período de las 2:00 hrs am a las 10 hrs am del día siguiente. Finalmente, se analizó el registro fragmentado en dos períodos de 12 horas correspondientes al período luz (de las 6:00 hrs am a las 18:00 hrs pm) y al período oscuridad (de las 18:00 hrs pm a las 6:00 hrs am)

El análisis estadístico se realizó con la prueba paramétrica de ANOVA para conocer la significancia de los resultados y una comparación posterior mediante la prueba de Tukey para conocer las diferencias entre grupos (ver Haber y Runyon, 1973).

RESULTADOS

Después de haberse expuesto 24 horas al ozono, los gatos no presentaron ninguna alteración física evidente, sin embargo la inhalación de 1.5 ppm de ozono les produjo depresión de la actividad motora y secreciones mucosas hialinas en la nariz. Todas estas alteraciones desaparecieron aproximadamente 15 minutos después de que comenzaron a inhalar aire depurado de contaminantes.

La cuantificación de los registros electrográficos mostraron los siguientes resultados.

La exposición continua de 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono durante 24 horas (Figura 6) no produce variaciones significativas en los porcentajes en minutos de la vigilia y el SDI en relación con los valores control; no obstante, la exposición de 1.0 y 1.5 ppm de ozono produjo un decremento significativo ($F = (3,14) = 5,52$; $p < 0.01$) de los porcentajes en minutos del SP.

La latencia en la aparición del primer episodio de SP durante la exposición de las tres concentraciones de ozono experimentadas, no mostró ninguna variación significativa en relación con los valores control registrados.

La frecuencia de episodios de la vigilia y el SDI durante 24 horas de exposición al ozono (Figura 7) no variaron significativamente a comparación con los valores control; sin embargo, se observó que la exposición a 1.5 ppm de ozono indujo un decremento significativo ($p < 0.01$) de la frecuencia de episodios del SP; no obstante, la duración de los episodios de la vigilia, el SDI y el SP durante 24 horas (Figura 8), no mostraron ninguna alteración significativa en relación con los valores control durante la exposición de todas las concentraciones de ozono experimentadas.

La relación de los resultados obtenidos en 24 horas de exposición a 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono se muestran en la tabla II.

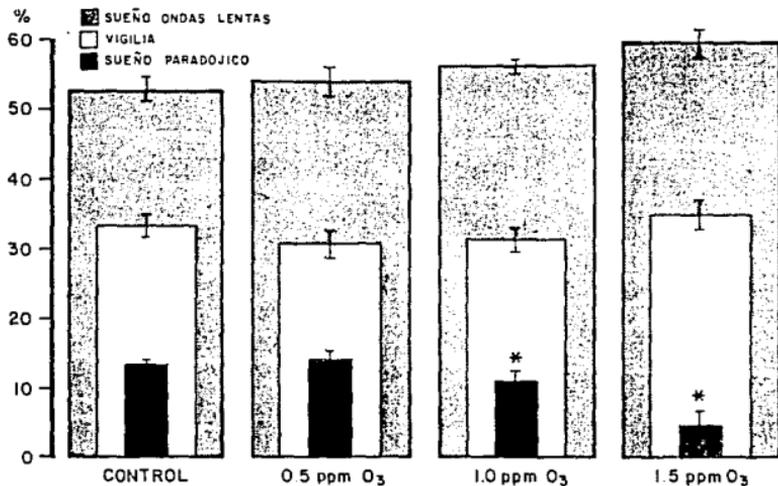


FIGURA 6 Gráfica que representa el promedio de los porcentajes en minutos de la vigilia, el SOL y el SP durante 24 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Significancia del SP: $p < 0.01$, * diferencia entre grupos: Tukey.

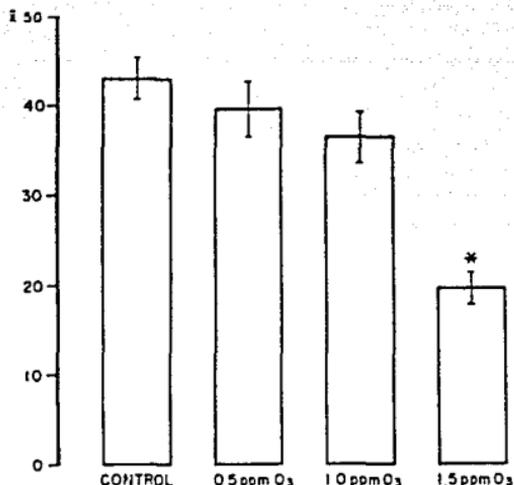


FIGURA 7 Gráfica que representa la frecuencia promedio de los episodios del SP durante 24 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Significancia: $p < 0.01$, * diferencia entre grupos: Tukey.

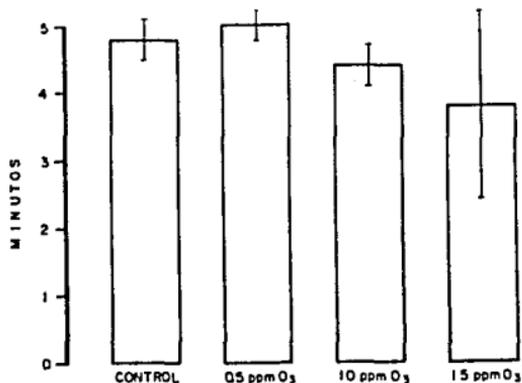


FIGURA 8 Gráfica que representa la duración promedio de los episodios de SP durante 24 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono.

	CONTROL		0.5 ppm		1.0 ppm		1.5 ppm	
	n=9		n=3		n=3		n=3	
	\bar{x}	+/- DS						
% VIG	33.2	2.7	30.7	4.3	31.3	2.6	34.7	7.1
% SOL	52.9	2.5	55.2	3.2	57.3	0.8	59.5	4.7
% SP ~	13.5	0.2	14.0	1.4	11.1	2.0*	5.6	2.6*
FE VIG	278.0	72.6	295.0	7.0	332.0	29.9	354.0	30.0
FE SOL	295.0	65.7	314.0	11.1	344.0	17.0	363.0	29.0
FE SP ~	41.9	2.0	39.6	3.0	36.6	7.5	19.6	3.2*
DE VIG	1.7	0.4	1.4	0.2	1.5	0.2	1.3	0.1
DE SOL	2.7	0.8	2.5	0.08	2.4	0.1	2.3	0.3
DE SP	4.8	0.3	5.0	0.2	4.4	0.3	3.8	1.4

TABLA II Promedio de los porcentajes en minutos (%), frecuencia de episodios (FE) y duración de los episodios (DE) de la vigilia (VIG), el SOL y el SP durante 24 horas de exposición al ozono. \bar{x} = media, DS= desviación estandar, n= número de datos. (~ p < 0.01, * diferencia entre grupos: Tukey).

Un análisis estadístico posterior de los resultados consistió en la cuantificación fragmentada del registro polisomnográfico en tres períodos consecutivos de 8 horas. Esto es, de las 10:00 hrs am a las 18:00 hrs pm se consideró el primer período, de las 18:00 hrs pm a las 2:00 hrs am transcurrió el segundo período y de las 2:00 hrs am a las 10:00 hrs pm del día siguiente transcurrió el tercer período.

Durante el primer período (Figura 9) se presentó un incremento significativo ($F = (3,14) = 3,34; p < 0.05$) en los porcentajes en minutos de la vigilia durante la exposición de 0.5 y 1.5 ppm de ozono y un decremento significativo ($p < 0.01$) de los porcentajes en minutos del SP en todas las concentraciones de ozono experimentadas. Este incremento en los porcentajes en minutos de la vigilia (Figura 10) sólo se presentó en el primer período de 8 horas, pues en los últimos dos períodos de 8 horas no mostraron variaciones significativas. Por otro lado, la inhalación de 1.5 ppm en el primer período de 8 horas (Figura 11) incrementa significativamente ($p < 0.05$) la frecuencia de episodios de la vigilia y el SOL a expensas de un decremento significativo ($p < 0.01$) en la frecuencia de episodios de SP observada con la inhalación de 0.5 y 1.5 ppm de ozono; no obstante, la duración promedio de estos episodios no manifiesta ninguna variación significativa en relación con los valores control (Figura 12).

Durante el segundo período (Figura 13), la exposición a 1.5 ppm de ozono produjo el incremento significativo ($p < 0.05$) de los porcentajes de SOL en minutos y el decremento significativo ($p < 0.01$) del porcentaje de SP en minutos en relación con sus respectivos registros control. Este decremento del porcentaje del SOL en minutos sólo se presentó en el segundo período de 8 horas (Figura 14); sin embargo, el porcentaje del SP en minutos (Figura 15) disminuyó significativamente durante los dos primeros períodos de 8 horas con la inhalación de 1.5 ppm de ozono; mientras que, en el último período de 8 horas no se registró ninguna variación significativa.

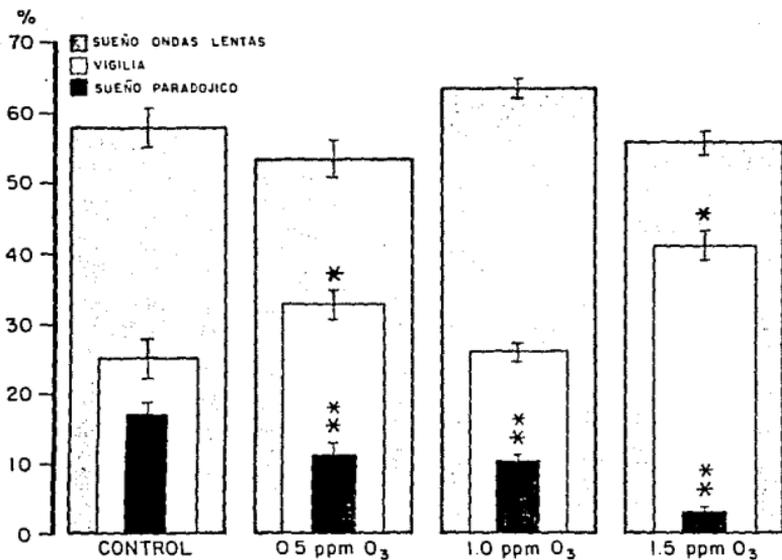


FIGURA 7 Gráfica que representa el promedio de los porcentajes en minutos de la vigilia, el SOL y el SP durante el primer período de 8 horas a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Significancia del SP: $p < 0.01$, † diferencia entre grupos: Tukey. Significancia de la vigilia: $p < 0.05$, ** diferencia entre grupos: Tukey.

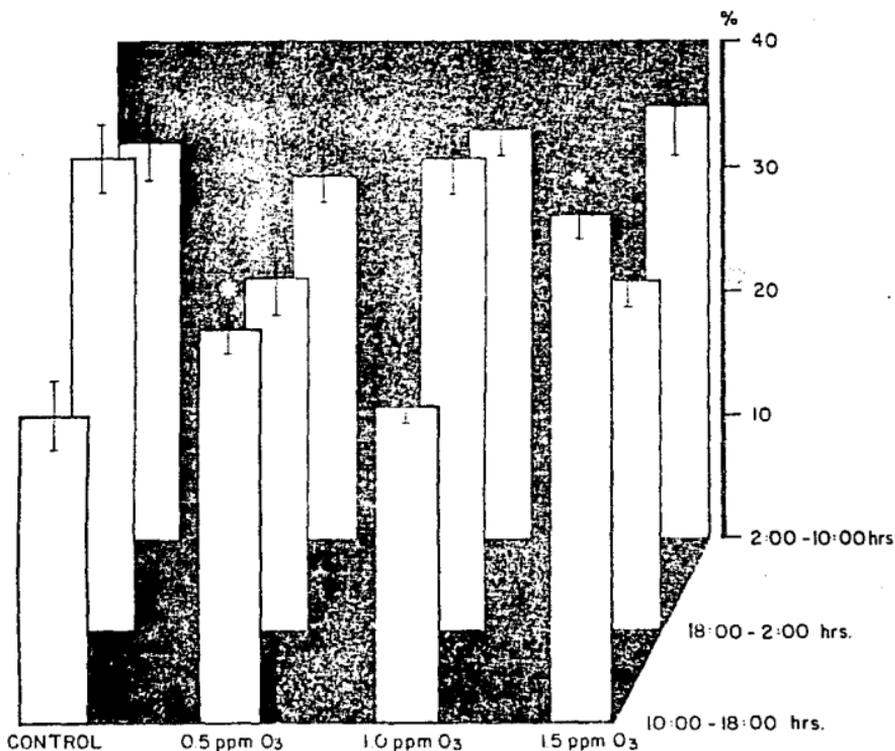


FIGURA 10 Gráfica que representa el promedio de los porcentajes en minutos de la vigilia durante los tres períodos fragmentados de 8 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Notese el incremento significativo del porcentaje promedio en minutos de la vigilia durante el primer período de 8 horas. Significancia: $p < 0.05$, \dagger diferencia entre grupos: Tukey.

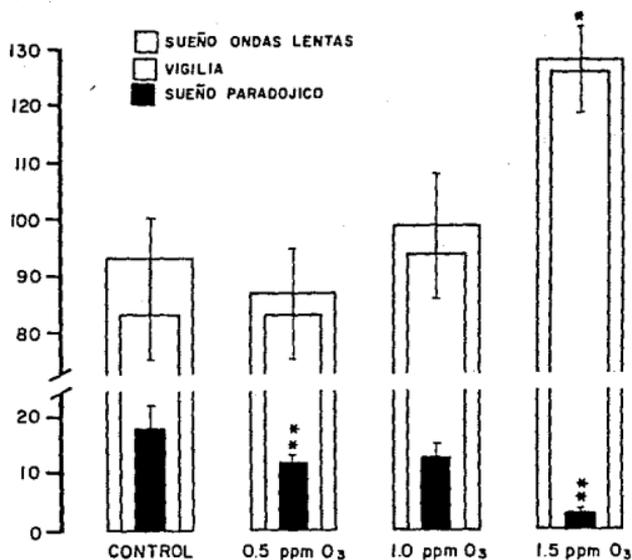


FIGURA 11 Gráfica que representa el promedio de la frecuencia de episodios en minutos de la vigilia, el SOL y el SP durante el primer período de 8 horas a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Significancia del SP: $p < 0.01$, ** diferencia entre grupos: Tukey. Significancia de la vigilia y SOL: $p < 0.05$, * diferencia entre grupos: Tukey.

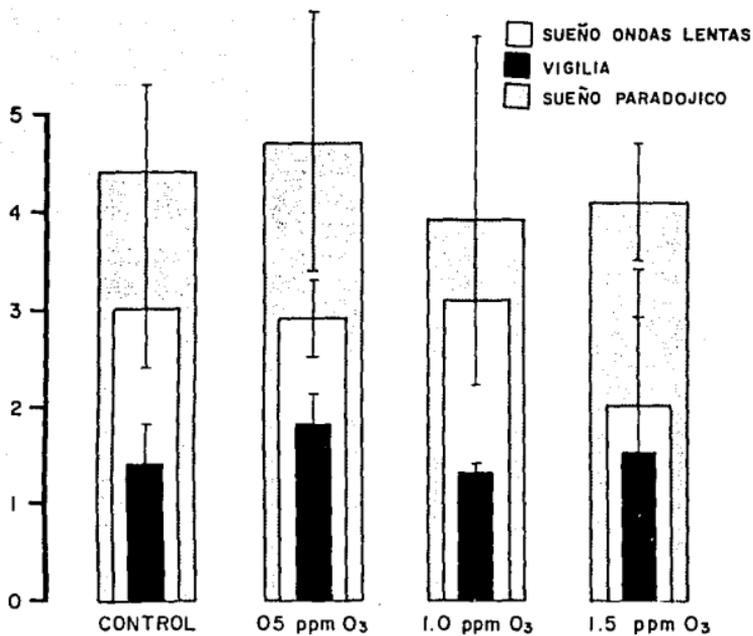


FIGURA 12 Gráfica que representa la duración promedio de los episodios de la vigilia, el SOL y el SP durante el primer período de 8 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono.

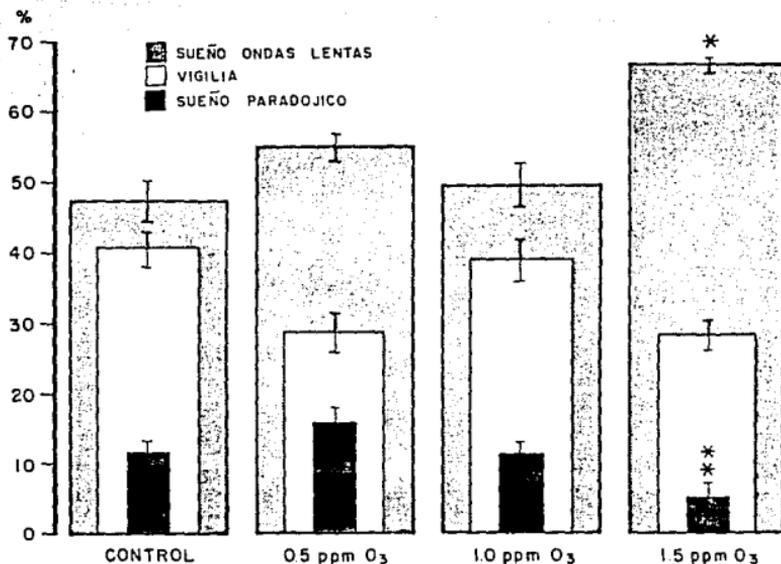


FIGURA 13 Gráfica que representa el promedio de los porcentajes de la vigilia, el SDL y el SP en minutos durante el segundo período de 8 horas a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Significancia del SP: $p < 0.01$, ** diferencia entre grupos: Tukey. Significancia del SDL: $p < 0.05$, * diferencia entre grupos: Tukey.

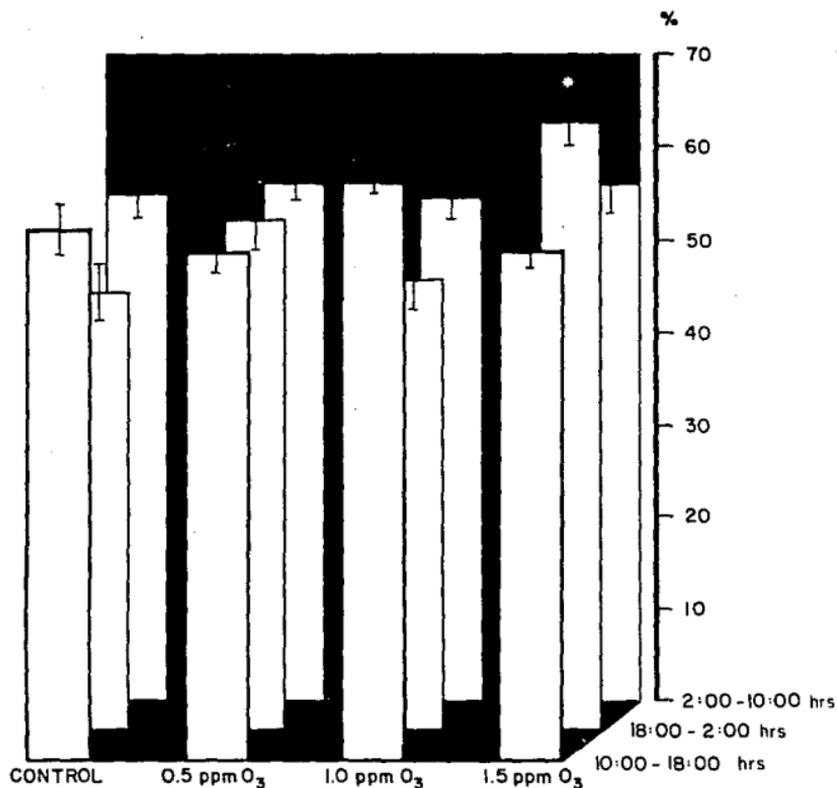


FIGURA 14 Gráfica que representa el promedio de los porcentajes del SOL en minutos durante los tres períodos fragmentados de 8 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Notese el incremento significativo del porcentaje promedio en minutos del SOL durante el segundo período de 8 horas. Significancia: $p < 0.05$, * diferencia entre grupos: Tukey.

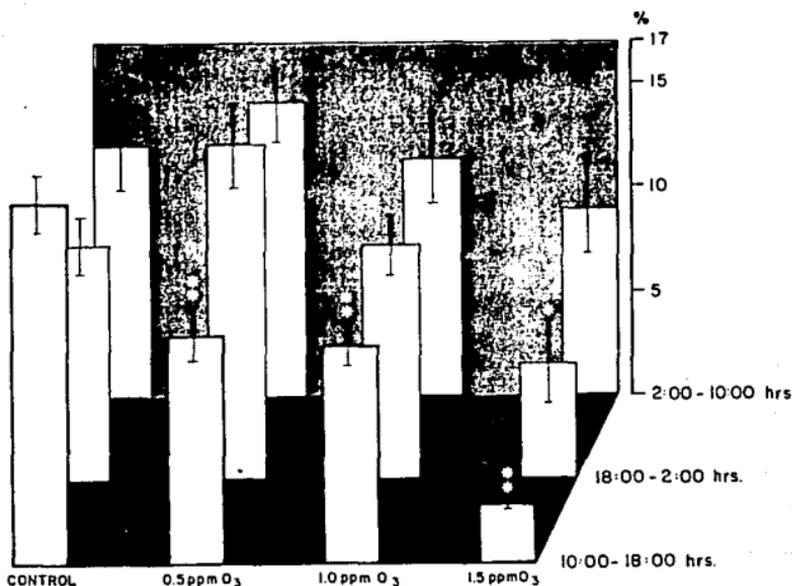


FIGURA 15 Gráfica que representa el promedio de los porcentajes del SP en minutos durante los tres períodos fragmentados de 8 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Notese el decremento significativo durante el primer período de 8 horas (significancia: $p < 0.01$, ** diferencia entre grupos: Tukey); así como el decremento significativo durante el segundo período de 8 horas (Significancia: $p < 0.05$; * diferencias entre grupos: Tukey).

En el tercer período de 8 horas (Figura 16) no se observó ninguna variación en los porcentajes en minutos de la vigilia, el SOL y el SP.

Un último análisis estadístico de los resultados consistió en la fragmentación del registro polisomnográfico de 24 horas de acuerdo al período con luz (6:00 hrs am a 6:00 hrs pm) y al período con oscuridad (6 hrs pm a 6 hrs am). Los resultados obtenidos (Figura 17) no muestran ninguna variación significativa en la vigilia y el SOL en relación con ambos períodos. No obstante, durante el período de luz los porcentajes del SP en minutos disminuyeron significativamente en todas las concentraciones administradas; mientras que durante el período de oscuridad se observa incremento significativo ($p < 0.01$) en los porcentajes en minutos de SP con la concentración de 0.5 ppm de ozono y una disminución significativa ($p < 0.01$) de los porcentajes del SP en minutos con la concentración de 1.5 ppm de ozono. Por otro lado, (Figura 18) la frecuencia de episodios de SP durante el período de luz disminuyó significativamente ($p < 0.01$) con 1.5 ppm de ozono, y en el período de oscuridad disminuyó significativamente ($p < 0.01$) con 1.0 y 1.5 ppm de ozono. Finalmente, la exposición a 0.5 ppm de ozono produce un incremento significativo ($p < 0.05$) en la duración de los episodios de SP durante el período de oscuridad.

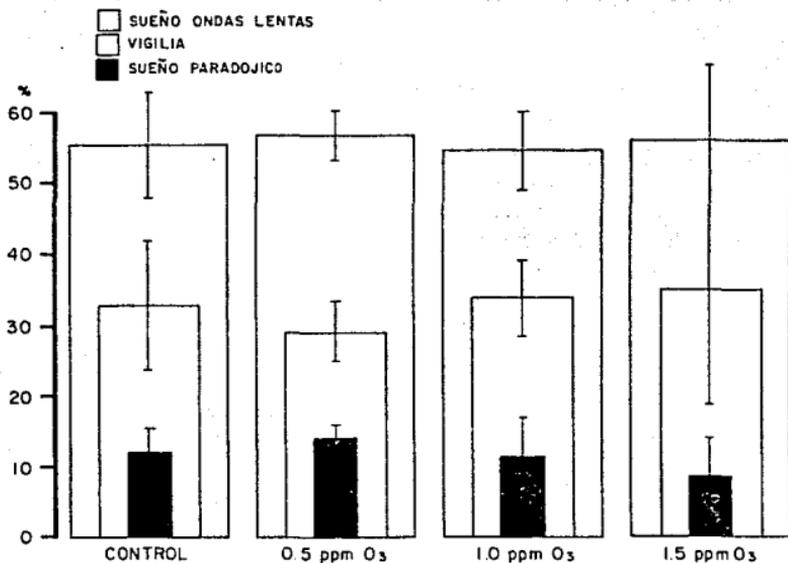


FIGURA 16 Grafica que representa el promedio de los porcentajes en minutos de la vigilia, el SOL y el SP durante el tercer período de 8 horas a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono.

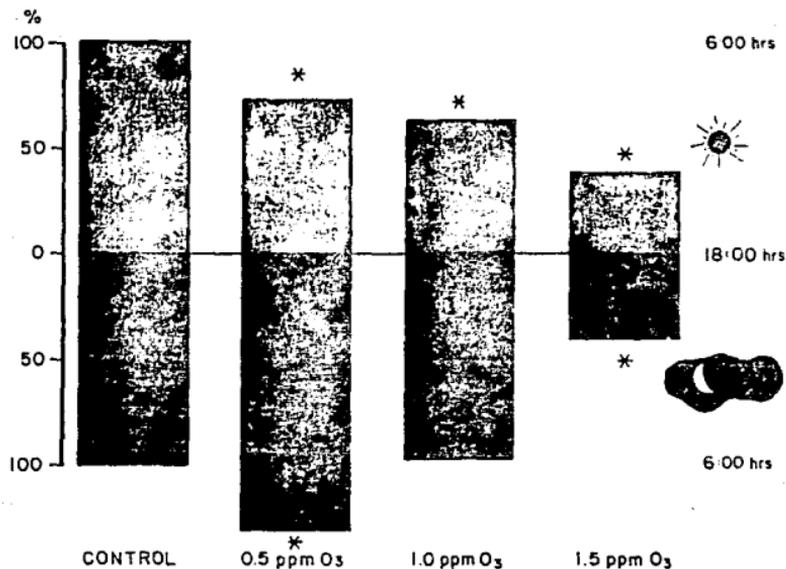


FIGURA 17 Gráfica que representa el promedio de los porcentajes en minutos del SP durante dos periodos fragmentados de 12 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. El periodo de luz se representa con el sol y el periodo de oscuridad se representa con la luna. Significancia: $p < 0.01$, * diferencias entre grupos: Tukey.

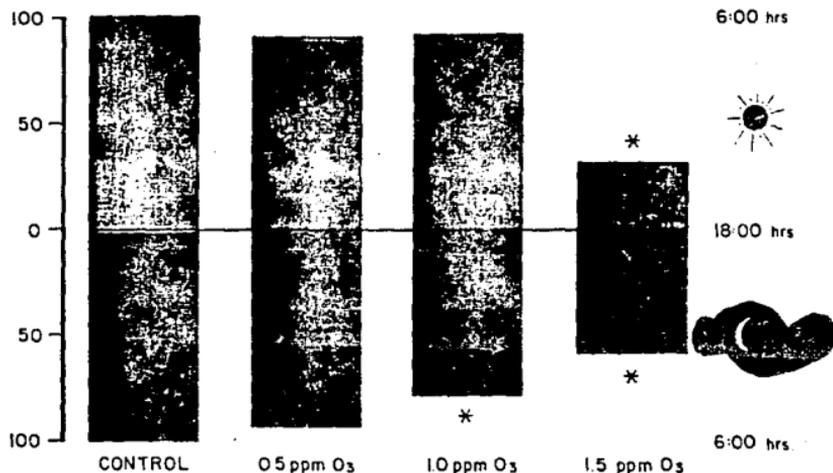


FIGURA 18 Gráfica que representa la frecuencia promedio de los episodios del SP durante dos períodos fragmentados de 12 horas de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. El período de luz se relaciona con el sol y el período de oscuridad de se relaciona con la luna. Significancia: $p < 0.01$. * diferencias entre grupos: Tukey.

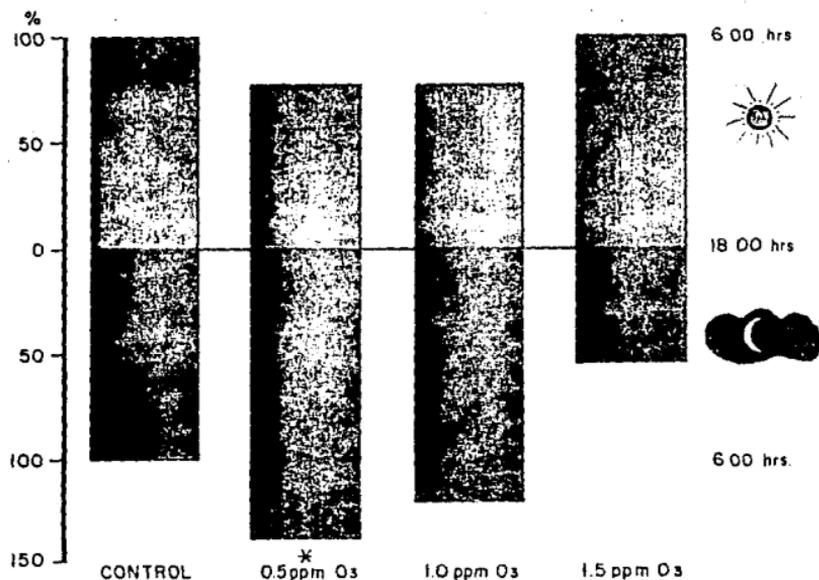


FIGURA 19 Gráfica que representa la duración promedio de los episodios del SP durante dos períodos fragmentados de 12 hrs de exposición a 0 (control), 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono. El período de luz se relaciona con el sol y el período de oscuridad se relaciona con la luna. Significancia: $p < 0.05$, * diferencias entre grupos: Tukey.

DISCUSION

Nuestros resultados muestran alteraciones del sueño como consecuencia de los efectos que produce el ozono en el funcionamiento del sistema nervioso central (SNC). Existen pocas evidencias acerca de los efectos del ozono en el SNC; no obstante se ha reportado que la exposición al ozono induce modificaciones en los niveles de neurotransmisores comunmente utilizados en el SNC para su expresión motora y conductual (Skillen y col, 1961; P'an y Jergier, 1970; Trams y col, 1972; Gordon y col, 1981). Así mismo se han reportado alteraciones en la conducción neuronal manifestada en un retardo de la propagación de potenciales evocados visuales (Xintaras y col, 1966), así como en la actividad motora espontánea y mediante condicionamiento operante en animales expuestos al ozono (Weiss y col, 1981; Tepper y col, 1982; Tepper y Wood, 1985; Tepper y Weiss, 1986).

El efecto de bajas concentraciones de ozono en los estados de sueño de las ratas, no produce modificaciones significativas durante 5 días de exposición continua (Arito y col, 1990). Sin embargo las dosis comprendidas entre 0.5 a 1.5 ppm de ozono producen alteraciones significativas desde las primeras 8 horas de exposición. Este efecto se ha expresado principalmente en el decremento del SP; además, la disminución en la frecuencia de episodios de SP sin alterar la duración promedio de cada episodio sugieren, que la inhalación de ozono manifieste sus efectos sobre los mecanismos generadores del SP sin modificar a los de mantenimiento del mismo, probablemente por alteración de los neurotransmisores que participan en su generación (Skillen y col, 1961; P'an y Jergier, 1970; Trams y col, 1972; Gordon y col, 1981). Así mismo, durante el primer periodo de 8 horas se observó incremento en los porcentajes promedio en minutos de la vigilia. También se encontró alteraciones significativas durante el segundo periodo de 8 horas. Entre estos cambios fue evidente el incremento en los porcentajes promedio del SOL. Esta evolución en las variaciones electroencefalográficas también se han observado

con la inhalación aguda de tolueno, benceno, metanol, nitrógeno, bióxido de carbono y tiner. Durante las primeras horas de exposición a estos inhalantes, se manifiesta un período excitatorio con oscilaciones electrográficas corticales rápidas y de bajo voltaje; posteriormente la actividad motora disminuye y las oscilaciones electrográficas corticales se tornan lentas y de alto voltaje (Gastaut y col, 1961; Contreras y col, 1978b, Mergirian y col, 1980; Kira y col, 1988).

Es de hacer notar que durante el período de luz el decremento de los porcentajes promedio en minutos del SP se observó en todas las concentraciones administradas. Este efecto se debió probablemente por la relación que guarda el inicio de la exposición al ozono con el período de luz. Sin embargo, durante el período de oscuridad, se observó incremento significativo en la duración de episodios y en los porcentajes promedio del SP con 0.5 ppm, lo que sugiere que se manifiestan mecanismos compensatorios sólo con bajas concentraciones de ozono, pues con 1.0 y 1.5 ppm de ozono se sigue manifestando la tendencia al decremento de los porcentajes promedio de SP. La expresión de los mecanismos compensatorios del SNC como el "rebote" o aumento de SP producido tras su privación parcial o total a sido referida en numerosos trabajos. Jouvét (1964), Vimont-Vicary y colaboradores (1966) y Dement (1960) demostraron que la cantidad de SP aumenta proporcionalmente de acuerdo a la duración de la privación; además, el aumento de SP se manifiesta en un incremento en la frecuencia de episodios y no en la duración de estos; así mismo, Pieron (1913; en Borbély y Tobler, 1989) demostró que el proceso de privación de SP evoca un incremento eventual de productos metabólicos ó hipnotoxinas. No obstante, también se ha reportado que el aumento de SP se induce al eliminar el fármaco que produce su privación (Jouvét, 1967), y en el caso del ozono el aumento de SP se manifiesta aún durante la exposición, además de que se expresa en un aumento de la duración de los episodios de SP y no en un incremento de episodios como se había indicado anteriormente.

Los efectos producidos por la privación del SP fueron descritos desde 1960 por Dement. Este autor encontró en voluntarios a los que se les privó selectivamente del SP, alteraciones psicológicas consistentes en irritabilidad, dificultad en la concentración y, en casos extremos ansiedad y pánico. Jouvett (1964) demostró que la privación selectiva del SP en gatos induce disminución en la conducta agresiva; no obstante, Hicks y colaboradores (1979) reportan el efecto inverso en ratas. Por otro lado, se ha demostrado que la privación selectiva de SP incrementa la somnolencia, la hipotonía muscular, la excitación sexual, el ritmo cardiaco y la conducta exploratoria de las ratas, además de retardarles el aprendizaje (Vimont-Vicary y col, 1966; Moore y col, 1979; Smith y Kelly, 1986; Vogel y col, 1990). Fishbein y colaboradores (1974) postularon una relación directa entre el aprendizaje y el incremento del SP. De hecho, las alteraciones del SP sirven como índice en la diferenciación en los estados de depresión en el hombre (Kupfer y col, 1978) y en la rata (Moore y col, 1979).

En la actualidad se desconocen los mecanismos que inducen efectos sobre el SNC por la inhalación de ozono. Se ha reportado que la hiperóxia induce necrosis y daños permanentes en el SNC manifestados por letargia y depresión motora (Haugaard, 1968); estas mismas manifestaciones se han reportado como resultado de la inhalación del ozono (Hiroshima y col, 1987; Tepper y col, 1990); sin embargo no existe ninguna correlación histológica que apoye la similitud en los mecanismos de toxicidad de ambos gases.

Se sabe que el ozono altera la permeabilidad celular mediante la liberación de radicales libres que reaccionan con las proteínas y los ácidos grasos polinsaturados de la membrana (Roatman y col, 1974; Menzel, 1970; Scheel y col, 1959; Rasmussen y Bhalla, 1989; Goldstein y col, 1970; Shelley y col, 1989). Este efecto modifica la morfofisiología de estructuras que entran en contacto directo con el ozono inhalado (Aizawa y col, 1985; Hiroshima y col, 1987; Shelley y col, 1989; van Bree y col, 1988). Se ha sugerido que el ozono modifica las funciones del SNC mediante estas alteraciones

(Weiss y col, 1981).

Varios investigadores han estudiado los efectos del ozono en el aparato respiratorio, y han reportado que la inhalación de este gas induce alteraciones en las vías respiratorias (USEPA, 1984; Stockinger, 1965; Menzel, 1984; Bassett y col, 1988; Bhalla y col, 1988; van Bree y col, 1988; Rasmussen y Bhalla, 1989; Hazucha, 1987). Así mismo se ha observado que este tipo de trastornos inducen alteraciones en la arquitectura del sueño (Thorpy, 1990) lo que sugiere que el ozono puede producir modificaciones del sueño mediante las alteraciones del aparato respiratorio.

Se ha reportado que las enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC) como el enfisema, la bronquitis y el asma producen manifestaciones comparables a las que induce la inhalación de ozono en las vías respiratorias. Entre las principales manifestaciones de los pacientes con EPOC se encuentran la contracción bronquial, rompimiento de endotelio y espacio alveolar, edema, infiltración celular, y jadeo (Boushey y Holtzman, 1987). Sin embargo, se ha postulado que los pacientes con EPOC presentan disminución del SOL a expensas de incremento de la vigilia así como fragmentación del sueño (Kales, 1964; Bradley y col, 1986); mientras que, en nuestro trabajo el efecto más evidente producido por la inhalación de ozono es el decremento del SP, y no existen reportes de alteraciones del SP en pacientes con EPOC (Krieger y col, 1989; Orr y col, 1990; Ballard y col, 1990). Además, se ha reportado que las alteraciones del ozono en el pulmón guardan una relación directa con la duración de la exposición, esto es, a mayor tiempo de exposición, más alteraciones pulmonares (Hiroshima y col, 1987). Sin embargo, nuestros resultados indican que el efecto más drástico en el sueño de los gatos producido por la inhalación del ozono se observa durante las primeras 8 horas de exposición, y este efecto se decrementa conforme transcurre el tiempo.

Finalmente, nuestros resultados sugieren la existencia de mecanismos compensatorios del SNC que produzcan el aumento del SP aún durante la exposición al ozono. Se ha determinado la presencia de antioxidantes en las vías respiratorias como el glutatión, la albumina y la superóxido dismutasa en animales expuestos al ozono (Halliwell, 1990; Tepper y col, 1989). En un reporte realizado en 1986 por Kontos y colaboradores demostraron la capacidad de producción de antioxidantes en el cerebro cuando se induce una lesión; sin embargo, Trams y colaboradores (1972) no encontraron peroxidación de lípidos en el cerebro de perros expuestos al ozono, lo que sugiere que el ozono no llegue o no pase la barrera hematoencefálica, sino que probablemente provoque su efecto mediante otras alteraciones, sin descartar las que se producen en el aparato respiratorio, que podrían ejercer un efecto sinérgico sobre el SNC induciendo cambios en el sueño.

Este trabajo constituye un reporte de los efectos de 0.5, 1.0 y 1.5 ppm de ozono en el sueño de los gatos. No obstante, quedan muchas preguntas a resolver. ¿Cuál es la duración de estas alteraciones?; ¿Cuáles son los mecanismos involucrados en éstas?; ¿Qué sucede con exposiciones repetitivas como a las que estamos sometidos los habitantes de las grandes ciudades?

CONCLUSIONES

1. Nuestros resultados indican que el ozono produce alteraciones del sueño directamente proporcionales a las dosis suministradas.
 2. El ozono produce sus efectos sobre el SP desde las primeras 8 horas de exposición.
 3. En el segundo tercio de exposición ocurren otros cambios compensatorios como el incremento del SOL.
 4. En las últimas 8 horas no hay cambios significativos.
 5. Los resultados sugieren que la acción del ozono sobre el SNC podría ejercerse mediante mecanismos sinérgicos, producidos por alteraciones que induce el ozono en el organismo sobre el SNC.
-

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las autoridades del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, en especial al Dr. Julio Sotelo Morales por las facilidades que me fueron otorgadas para la realización de esta tesis.

Al Dr. Carlos Paz Trés por su valioso asesoramiento en la dirección del trabajo de tesis, por su paciencia y apoyo.

A los Doctores María Luisa Fanjul de Moles, Helgi Jung Cook y Manuel León Cazares así como al M en IBB Marco Antonio Sánchez Ramos por su amable interés y por las valiosas sugerencias aportadas durante la revisión del presente estudio.

Al Dr. Humberto Bravo Alvarez y a la Bióloga Rosaura Camacho Carmona, de la sección de Contaminación Ambiental del Instituto de Ciencias de la Atmósfera UNAM, por su valioso e incondicional asesoramiento en la implementación del dispositivo experimental utilizado en este trabajo.

Al laboratorio de Psicofarmacología del INNN, a Francisco Gutierrez Baeza y a Jesús Martínez González por su colaboración técnica.

Mi más sincero agradecimiento a Victor Shamann Bazán Perkins, a Edgar Sanchez Guerrero, a Genaro Trias de Cena, a Reyes Haro Valencia, a Flor de Guadalupe Marquez Mendiola y especialmente a Rocio Vivas Flores por toda la colaboración técnica, las sugerencias, el apoyo, la paciencia y sobre todo por la amistad mostradas durante la realización de este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

AIZAWA H., CHUNG K.F., LEIKAUF G.D., UEKI I., BETHEL R.A., O'BYRNE P.M., HIROSE T. y NADEL J.A. (1985) Significance of thromboxane generation in ozone-induced airway hyperresponsiveness in dogs. *J Appl Physiol* 59(6):1918-1923.

ARITO H. y TSURUTA H. (1988a) Increased water drinking following repeated exposures to toluene vapor in rats. *Ind Health* 26:125-134.

ARITO H., TSURUTA H. y OGURI M. (1988b) Changes in sleep and wakefulness following single and repeated exposure to toluene vapor in rats. *Arch Toxicol* 62:76-80.

ARITO H., UCHIYAMA I., ARAKAWA H. y YOKOYAMA E. (1990) Ozone-induced bradycardia and arrhythmia and their relation to sleep-wakefulness in rats. *Tox Lett* 52:169-178.

ASERINSKY E. y KLEITMAN N. (1955) Two types of ocular motility occurring in sleep. *J Appl Physiol* 8:1-10.

AUSTT E.G. y BAÑOS W. (1979) Ritmos eléctricos del cerebro e integración sensoriomotriz. *El cerebro*, Prensa Científica. Barcelona, España; cuarta edición, pag. 180-193.

BALLARD R.D., IRVIN C.G., MARTIN R.J., PAK J., PANDEY R. y WHITE D.P. (1970) Influence of sleep on lung volume in asthmatic patients and normal subjects. *J Appl Physiol* 68(5):2034-2041.

BARRY E.B., MERCER R.R., MILLER F.J. y CRAPD J.D. (1988) Effects of inhalation of 0.25 ppm ozone on the terminal bronchioles of juvenile and adult rats. *Exp Lung Res* 14:225-245.

BASCOM R., NACLERIO R.M., FITZGERALD T.K., KAGEY-SOBOTKA A. y PROUD D. (1990) Effect of ozone inhalation on the response to nasal challenge with antigen of allergic subjects. *Am Rev Resp Dis* 142:594-601.

BASSET D.J.P., BOWEN-KELLY E., BREWSTER E.L., ELBON C.L., REICHENBAUGH S.S., BUNTON T. y KERR J.S. (1988) A reversible model of acute lung injury based on ozone exposure. *Lung* 166:355-369.

BATINI C., MORUZZI G., PALESTINI M. y ROSSI G.F. (1958) Persistent patterns of wakefulness in the pretrigeminal midpontine preparation. *Science* 128:30-32.

BATINI C., MORUZZI G., PALESTINI M., ROSSI G.F. y ZANCHETTI A. (1959) Effects of complete pontine transections on the sleep-wakefulness rhythm: the midpontine pretrigeminal preparation. *Arch Ital Biol* 97:1-12.

BECKETT S.W., McDONNELL F.W., HORSTMAN H.D. y HOUSE E.D. (1985) Role of the parasympathetic nervous system in acute lung response to ozone. *J Appl Physiol* 59(6):1879-1885.

BECKETT S.W., FREED A.N., TURNER C. y MENKES H.A. (1988) Prolonged increased responsiveness of canine peripheral airways after exposure to ozone. *J Appl Pharmacol* 64:605-610.

BHALLA D.K., LAVAN S.M. y CROCKER T.T. (1988) Airway permeability in rats exposed to ozone or treated with cytoskeleton-destabilizing drugs. *Exp Lung Res* 14:501-525.

ROATMAN E.S., SATO S. y FRANK R. (1974) Acute effects of ozone on cat lungs. *Am Rev Resp Dis* 110:157-169.

BONVALLET M. y BLOCH V. (1961) Bulbar control of cortical arousal. *Science* 133:1133-1134.

BONVALLET M. y ALLEN M.B. (1963) Prolonged spontaneous and evoked reticular activation following discrete bulbar lesions. *Electroenceph Clin Neurophysiol* 15:969-988.

BORBELY A.A. y TOBLER I. (1989) Endogenous sleep-promoting substances and sleep regulation. *Physiol Rev* 6:605-670.

BOUSHEY H.A. y HOLTZMAN M.J. (1987) Broncodilatadores y otros agentes empleados en el tratamiento del asma. *Farmacología Básica y Clínica*, tercera edición. Ed Manual Moderno, México D.F., pag. 230-241.

BRADLEY T.D., McNICHOLAS W.T., RUTHERFORD R., POPKIN J., ZAMEL N. y PHILLIPSON A.E. (1986) Clinical and physiologic heterogeneity of the central sleep apnea syndrome. *Am Rev Resp Dis* 134:217-221

BRAVO H., PERRIN F., SOSA R. y TORRES R. (1988) Importancia de la contaminación por ozono en la zona metropolitana de la ciudad de México. *Ciencia*, depto. de Física UNAM 12:36-39.

BREMER F. (1935a) Cerveau "isole" et physiologie du sommeil. *Comp Rend Soc Biol* 118:1235-1241.

BREMER F. (1935b) Nouvelles recherches sur le mecanisme du sommeil. *Comp Rend Soc Biol* 122:460-464.

CAMACHO-EVANGELISTA A. y REINOSO-SUAREZ F. (1964) Activating and synchronizing centers in cat brain: Electroencephalograms after lesions. *Science* 146:268-270.

CONTRERAS P.C.M., GONZALEZ-ESTRADA M.T., PAZ C. y FERNANDEZ-GUARDIOLA A. (1978a) Electroencephalographic and behavioral aspects of chronic exposure with industrial solvents to cats. en: Voluntary inhalation of industrial solvents. C.W. Sharp L.T. Carrol (Eds), National Institute on drug abuse, Rockville, Maryland, pp 226-245.

CONTRERAS P.C.M., GONZALES-ESTRADA M.T., ZARABOZO D. y FERNANDEZ-GUARDIOLA A. (1978b) Alteraciones electrocorticográficas, electromiográficas y conductuales producidas por la inhalación experimental de tolueno en rata. Cuadernos científicos CEMESAM 9:27-40.

CORDEAU J.P. y MANCIA M. (1959) Evidence for the existence of an electroencephalographic synchronization mechanism originating in the lower brain stem. EEG Clin Neurophysiol 11:551-564.

CORDEAU J.P., MOREAU A., BEAULNES A. y LAURIN C. (1963) EEG and behavioral changes following microinjections of acetylcholine and adrenaline in the brain stem of cats. Arch Ital Biol 101:30-47.

DANGUIR J. (1986) Intracerebroventricular infusion of somatostatin selectively increases paradoxical sleep in rats. Brain Res 367:26-30.

DELORME F., VIMONT P. y JOUVET D. (1964) Etude statique du cycle veille-sommeil chez le chat. Comp Rend Soc Biol 158:2128-2130.

DEMENT W. (1960) The effect of dream deprivation. Science 131:1705-1707.

DRUCKER-COLIN R. y PROSPERO-GARCIA D. (1990) Neurophysiology of sleep. En: Thorpy M.J. ed. Handbook of sleep disorders. New York: Marcel Dekker, Inc, pp 33-35.

DRUCKER-COLIN R., SPANIS C.W., COTMAN C.W. y McGAUGH (1975) Changes in protein levels in perfusates of freely moving cats: relation to behavioral state. *Science* 187:963-965.

FARRELL B.P., KERR H.D., KULLE T.J., SAUDER L.R. y YOUNG J.L. (1979) Adaptation in human subjects to the effects of inhaled ozone after repeated exposure. *Am Rev Resp Dis* 119:725-730.

FERNANDEZ-GUARDIOLA A., LERDO DE TEJADA A., CONTRERAS C., SALGADO A. y AYALA F. (1972) Polygraphic study in man to differentiate sleep-inducing action of hypnotics. *Psychopharmacol* 26:285-295.

FISHREIN W., KASTANINTIS C. y CHATTMAN D. (1974) Paradoxical sleep: prolonged aumentation following learning. *Brain Res* 79:61-75.

FOLINSBEE L.J., HORVATH S.M., RAVEN P.B., BEDI J.F., MORTON A.R., DRINKWATER B.L., BOLDUAN N.W. Y GLINER J.A. (1977) Influence of exercise and heat stress on pulmonary function during ozone exposure. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 43:409-413.

FOSTER M.W., COSTA D.L. y LANGENBACK E.G. (1987) Ozone exposure alters traqueobronquial mucociliary function in humans. *J Appl Physiol* 63:996-1002.

GASTAUT H., ROSTEM F., FERNANDEZ-GUARDIOLA A., NAQUET R. y GIBSON W. (1961) Hypoxic activation of the EEG by nitrogen inhalation. en *Cerebral anoxia and the electroencephalogram*, primera ed., Illinois, Charles C. Thomas cap. 34, pp 343-364.

GLINER J.A., HORVATH S.M. y FOLINSBEE L.J. (1983) Preeposure to low ozone concentrations does not diminish the pulmonary function response on exposure to higher ozone concentrations. *Am Rev Resp Dis* 127:51-55.

GOLDSTEIN B.D. y BALCHUM O.J. (1967) Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell. Proc Soc Exp Biol Med 126:356-358.

GOLDSTEIN B.D., LODI C., COLLINSON C. y BALCHUM O.J. (1969) Ozone and lipid peroxidation. Arch Environm Health 18:631-634.

GOLDSTEIN B.D., BUCKLEY R.D., CARDENAS R. y BALCHUM O.J. (1970) Ozone and vitamin E. Science 169:605-606.

GORDON T., TAYLOR B.F. y AMDUR M.O. (1981) Ozone inhibition of tissue cholinesterase in guinea pigs. Arch Environm Health 36:284-288.

HABER A. y RUNYON R.P. (1973) Estadística general. ed. FEI, México D.F. pp. 371.

HALLIWELL B. (1990) How to characterize a biological antioxidant. Free Rad Res Comms 9:1-32.

HAUGAARD N. (1968) Cellular mechanisms of oxygen toxicity. Physiol Rev 48:311-373.

HAZUCHA M.J. (1987) The relationship between ozone exposure and pulmonary function changes. J Appl Physiol 62:1671-1680.

HERNANDEZ-PEDN R., CHAVEZ-IBARRA G., MORGANE P.J. y TIMD-IARIA C. (1963) Limbic cholinergic pathways involved in sleep and emotional behavior. Exp Neurol 8:93-111.

HESS R., KOELLA W.P., AKERT K. (1953) Cortical and subcortical recordings in natural and artificially induced sleep in cats. EEG Clin Neurophysiol 5:75-90.

- HICKS R.A., MOORE J.D., HAYES C., PHILLIPS N. y HAWKINS J. (1979) REM sleep deprivation increases aggressiveness in males rats. *Physiol Behav* 22:1097-1100.
- HIROSHIMA K., KOHNO T., OWADA H. y HAYASHI Y. (1987) A morphological study of the effects of ozone on rat lung. *Exp Mol Pathol* 47:327-345
- HOLTZMAN M.J., FABRRI L.M., SKOOGH B.F., O'BYRNE P.M., WALTERS E.H., AIZAWA H. y NADEL J.A. (1983) Time course of airway hyperresponsiveness induced by ozone in dogs. *J Appl Physiol* 55(4):1232-1236.
- HORE T. y GIBSON D.E. (1968) Ozone exposure and intelligence tests. *Arch Environm Health* 17:77-79.
- HORVATH S.M., GLINER J.A. y FOLINSREE L.J. (1981) Adaptation to ozone: Duration of effect. *Am Rev Resp Dis* 123:496-499.
- HYNES R., SILVERMAN F., COLE P. y COREY P. (1988) Effects of ozone exposure: a comparison between oral and nasal breathing. *Arch Environ Health* 43:357-360.
- JOUVET M. (1962) Recherches sur les structures nerveuses et les mecanismes responsables des differentes phases du sommeil physiologique. *Arch Ital Biol* 100:125-206.
- JOUVET M. (1964) Etude de la privation selective de la phase paradoxale de sommeil chez le chat. *Compt Rend Soc Biol* 158:756-759.
- JOUVET M. (1967) Neurophysiology of states of sleep. *Physiol Rev* 47:117-177

JOUVET M. (1969) Biogenic amines and the states of sleep. *Science* 163:32-41.

JOUVET M. (1979) El comportamiento onírico. El cerebro. Investigación y ciencia. Prensa Científica. Barcelona, España, cuarta edición, pag. 206-220.

JOUVET M. y MICHEL F. (1959) Correlations electromyographiques du sommeil chez le chat decortique et mesencephalique chronique. *C R Soc Biol* 153:422-425.

JOUVET M., MICHEL F. y COURJON J. (1959) L'activite electrique du rinencephale au cours du sommeil chez le chat. *C R Soc Biol* 153:101-105.

JONES B.E. (1979) Elimination of paradoxical sleep by lesions of the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. *Neurosc Lett* 13:285-294.

JONES G.L., LANE C.G., MANNING P.J. y O'BYRNE P.M. (1987) Role of the parasympathetic nervous system in airway hyperresponsiveness after ozone inhalation. *J Appl Physiol* 63(3):1238-1243.

JONES G.L., LANE C.G., DANIEL E.E. y O'BYRNE P.M. (1988) Release of epithelium-derived relaxing factor after ozone inhalation in dogs. *J Appl Physiol* 65(3):1238-1243.

KALES A., HOEDEMAEKER S., JACOBSON A. y LICHTENSTEIN L. (1964) Dream deprivation: An experimental reappraisal. *Nature* 206:1337-1338.

KAY D.C., BLACKBURN A.B., BUCKINGHAM J.A y KARACAN I. (1976) Human pharmacology of sleep. en *Pharmacology of sleep* ed. Williams R.L. y Karacan I. Wiley medical USA. pag. 83-210.

KAY D.C., JASINSKI D.R., EISENSTEIN R.R. y KELLY D.A. (1972) Quantified human sleep after pentobarbital. Clin Pharmacol Therapeut 13:221-231.

KIRA S., OGATA M., EBARA Y., HORII S. y OTSUKI S. (1989) A case of thinner sniffing: relationship between neuropsychological symptoms and urinary findings after inhalation of toluene and methanol. Ind Health 26:81-85.

KONTOS H. y ENDOH P.W. (1984) Superoxide production in experimental brain injury. J Neurosurg 64:803-807.

KOREN H.S., DEVLIN R.B., GRAHAM D.E., MANN R., MCGEE M.P., HORSTMAN D.H., KOZUMBO W.J., BECKER S., HOUSE D.E., McDONNELL W.F. y BRODMBERG P.A. (1989) Ozone-induced inflammation in the lower airways of human subjects. Am Rev Resp Dis 139:407-415.

KRIEGER J., SFORZA E., APPRILL M., LAMPERT E., WEITZENBLUM E. y RATOMAHARD J. (1989) Pulmonary hypertension, hypoxemia, and hypercapnia in obstructive sleep apnea patients. Chest 96:729-737.

KULLE T.J. y COOPER G.P. (1975) Effects of formaldehyde and ozone on the trigeminal nasal sensory system. Arch Environm Health 30:237-243.

KUPFER D.J., FOSTER F.G., COBLE P., McPARTLAND R.J. y URLICH R.F. (1978) The application of EEG sleep for differential diagnosis of affective disorders. Am J Psychiat 135:69-74.

LASZY J. y SARKADI A. (1990) Hypoxia-induced sleep disturbances in rats. Sleep 13:205-217.

LEE L.Y., DUMONT C., DJOKIC T.D., MENZEL T.E. y NADEL J.A. (1979) Mechanism of rapid, shallow breathing after ozone exposure in conscious dogs. *J Appl Physiol: Respirat Environ Exercise Physiol* 46:1108-1114.

LINN W.S., JONES M.P., RACHMAYER E.A., CLARK K.W., KARUZA S.K. y HACKNEY J.D. (1979) Effect of low-level exposure to ozone on arterial oxygenation in humans. *Am Rev Resp Dis* 119:731-740.

LINN W.S., AVOL E.L., SHAMOO D.A., PENG R., VALENCIA L.M., LITTLE D.E. y HACKNEY J.D. (1988) Repeated laboratory ozone exposures of volunteer Los Angeles residents: An apparent seasonal variation in response. *Toxicol Ind Health* 4:505-520.

LYDIC R., MCCARLEY R.W. y HORSON J.A. (1987) Serotonin neurons and sleep I. Long term recordings of dorsal raphe discharge frequency and PGO waves. *Arch Ital Biol* 125:317-343.

MAGNES J., MORUZZI G. y POMPEIANO D. (1961) Sincronization of the EEG produced by low-frequency electrical stimulation of the region of the solitary tract. *Arch Ital Biol* 99:33-67.

MARINI G., IMERI L. y MANCIA M. (1988) Changes in sleep-waking cycle induced by lesions of medialis dorsalis thalamic nuclei in the cat. *Neurosci Lett* 85:223-227.

MCDONNELL W.F., HORSTMAN D.H., HAZUCHA M.J., SEAL E., HAAK E.D., SALAAM S. y HOUSE D.E. (1983) Pulmonary effects of ozone exposure during exercise: dose response characteristics. *J Appl Physiol* 54:1345-1352.

MCDONNELL W.F., HORSTMAN D.H., ABDUL-SALAAM S. y HOUSE D.E. (1985) Reproducibility of individual responses to ozone exposure. *Am Rev Resp Dis* 131:36-40.

MCGINTY D.J. y HARFFER R.M. (1971) Dorsal raphe neurons: depression of firing during sleep in rats. Brain Res 101:569-575.

MCGINTY D.J. y STERMAN M. B. (1968) Sleep suppression after basal forebrain lesions in cat. Science 160:1253-1255.

MEGIRIAN D., RYAN T.N. y SHERREY H.J. (1980) An electrophysiological analysis of sleep and respiration of rats breathing gas mixtures: diaphragmatic muscle function. Electroencephal Clin Neurophysiol 50:303-313.

MENZEL D.B. (1970) Toxicity of ozone, oxygen and radiation. Ann Rev Pharmacol 10:379-383.

MENZEL D.B. (1984) Ozone: an overview of its toxicity in man and animals. J Toxicol Environm Health 23:149-153.

MENZEL D.B. y WASH R. (1971) Oxidation of biologically active reducing substances by ozone. Arch Environm Health 23:149-153.

MOORE J.D., HAYES C. y HICKS R.A. (1979) REM sleep deprivation increases preference for novelty in rats. Physiol Behav 23:975-976.

MORUZZI G. (1963) Active processes in the brain stem during sleep. Harvey Lectures 58:233-297.

MORUZZI G. (1964) Reticular influences on the EEG. Electroencephal Clin Neurophysiol 16:2-17.

MORUZZI G. y MAGOUN H.W. (1949) Brain stem reticular formation and activation of EEG. EEG Clin Neurophysiol 1:455-473.

ESTA TESTS NO DEBE
SALIR BE LA BIBLIOTECA

NAUTA W.J.H. (1946) Hypothalamic regulation of sleep in rats. An experimental study. *J Neurophysiol* 9:285-316.

NIKULA J.K., WILSON D.W., GIRI S.N., PLOPPER C.G. y DUNGWORTH D.L. (1988) The response of the rat tracheal epithelium to ozone Exposure: Injury, adaptation and repair. *Am J Pathol* 131:373-383.

O'BYRNE P.M., JONES B.L., LANE C.G., PASHLEY M. y DANIEL E.E. (1988) Neural transmission during ozone-induced airway hypersponsiveness. Mechanisms in asthma: Pharmacology, physiology and management, pag. 3-13.

OGAWA Y. y KAWAMURA H. (1988) Increase of multiple unit activity during slow wave sleep in the cat preoptic area. *Brain Res Bull* 20:897-902.

ORR W.C., SHAMMA-OTHMAN Z., LEVIN D., OTHMAN J. y RUNDELL O.H. (1990) Persistent hypoxemia and excessive daytime sleepiness in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Chest* 97:583-585.

P'AN A.Y.S. y JERGIER Z. (1970) The effect of sulfur dioxide and ozone on acetylcholinesterase. *Arch Environm Health* 21:498-501.

PASTEL R.H. y FERNSTROM J.D. (1987) Short-term effects of fluoxetine and trifluoromethylphenylpiperazine on electroencephalographic sleep in the rat. *Brain Res* 436:92-102.

PAZ C., REYGADAS E. y FERNANDEZ-RUARDIOLA A. (1985) Sleep alterations following total cerebellectomy in cats. *Sleep* 5:218-226.

PEÑALOZA-ROJAS J.H., ELTERMAN M. y OLMOS N. (1964) Sleep induced by cortical stimulation. *Exp Neurol* 10:140-147.

PLAA G.L. (1987) Introducción a la toxicología: Toxicología ocupacional y ambiental. Farmacología Básica y Clínica, tercera edición. Ed Manual Moderno, México D.F., pag. 230-241.

POLC P., SCHNEEBERGER J. y HAEFELY W. (1979) Effect of several centrally active drugs on the sleep-wakefulness cycle of cats. *Neuropharmacol* 18:259-267.

PROSPERO-GARCIA D., MORALES M., ARANKOWSKY-SANDOVAL G. y DRUCKER-COLIN R. (1986) Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) and cerebrospinal fluid (CSF) of sleep-deprived cats restores REM sleep in insomniac recipients. *Brain Res* 385:169-173.

RASMUSSEN R.E. y BHALLA D.K. (1989) Transport across rat trachea in vitro after exposure to cytoskeleton-active drugs in vitro or ozone in vivo. *Exp Lung Res* 15:253-268.

REISER K.M., TYLER W.S., HENNESSY S.M., DOMINGUEZ J.J. y LAST J.A. (1987) Long-term consequences of exposure to ozone. II Structural alterations in lung collagen of monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol* 89:314-322.

ROSSI G.F. (1963) A study of the signs of sleep in the cat. en *Brain mechanisms*. Ed. Moruzzi G., Fessard A. y Jasper H. Vol. 1 pp. 404-428.

ROSSI G.F., FAVALE E., HARA T., GIUSSANI A. y SACCO G. (1961) Researches on the nervous mechanisms underlying deep sleep in the cat. *Arch Ital Biol* 99:270-292.

ROSSI G.F., MINOBE K. y CANDIA D. (1963) An experimental study of the hypnogenic mechanisms of the brain stem. *Arch Ital Biol* 101:470-492.

RYER-POWDER J.E., AMORUSO M.A., CZERINECKI B., WITZ G. y GOLDSTEIN B.D. (1988) Inhalation of ozone produces a decrease in superoxide anion radical production in mouse alveolar macrophages. *Am Rev Resp Dis* 138:1129-1133.

SASSIN J.F., PARKER D.C., MACE J.W., GOTLIN R.W., JOHNSON L.C. y ROSSMAN L.G. (1969) Human growth hormone release: relation to slow-wave sleep and sleep-waking cycles. *Science* 165:513-515.

SCHEEL L.D., DOROGORSKI D.J., MOUNTAIN J.T., SVIRBELY J.L. y STOKINGER H.E. (1959) Physiology, biochemical, immunologic and pathologic changes following ozone exposure. *J Appl Physiol* 14:67-80.

SCHFNKEL F. y SIEGEL J.M. (1989) REM sleep without atonia after lesions of the medial medula. *Neurosc Lett* 98:159-165.

SCHONFELD R.B., ADAMS C.W. y SCHELEGLE S.E. (1989) Duration of enhanced responsiveness upon re-exposure to ozone. *Arch Environ Health* 44:229-236.

SHELLEY S.A., PACIGA J.E., PATERSON J.F. y BALIS J.U. (1989) Ozone-induced alterations of lamellar body lipid and protein during alveolar injury and repair. *Lipids* 24:769-774

SKILLEN R., THIENES C., CANGELOS J. y STRAIN L. (1961) Brain 5-hydroxytryptamine in ozone exposed rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 108:121-122.

SMITH C. y KELLY G. (1986) Paradoxical sleep deprivation applied two days after end of training retards learning. *Physiol Behav* 43:213-216.

SNIDER R.S. y NIFMER W.T. (1961) A stereotaxic atlas of the cat brain. Ed. University Chicago Press. U.S.A.

SPEKTOR M.D., LIPPMANN M., LIOY J.P., THURSTON D.G., CITAK K., JAMES J.D., BOCK N., SPEIZER E.F. y HAYES C. (1988a) Effects of ambient ozone on respiratory function in active, normal children. Am Rev Res Dis 137:313-320.

SPEKTOR M.D., LIPPMANN M., LIOY J.P., THURSTON D.G., LIOY J.P., STECKD J., O'CONNOR G., GARSHICK E., SPEIZER E.F. y HAYES C. (1988b) Effects of Ozone on Respiratory Function in Healthy Adults Exercising Outdoors. Am Rev Res Dis 138:821-82.

STERMAN M.B. y CLEMENTE C.D. (1962) Forebrain inhibitory mechanisms: Sleep patterns induced by basal forebrain stimulation in the behaving cat. Exp Neurol 6:103-117.

STERMAN M.B., KNAUSS T., LEHMANN D. y CLEMENTE C.D. (1965) Circadian sleep and waking patterns in the laboratory cat. Electroenceph Clin Neurophysiol 19:509-517.

STOCKINGER H.E. (1965) Ozone toxicology. Arch Environm Health 10:719-731.

TAKAHASHI Y., KIPNIS D.M. y DAUGHADAY W.H. (1968) Growth hormone secretion during sleep. J Clin Invest 47:2079-2090.

TRAMS E.G., LAUTER C.J., BRANDERBURGER B.E.A. y BETHESDA D.Y. (1972) Cerebral cortical metabolism after chronic exposure to ozone. Arch Environm Health 24:153-159.

TEPPER J.S., COSTA D.L., LEHMAN J.R., WEBER M.F. y HATCH G.E. (1989) Unattenuated structural and biochemical alterations in the rat lung during functional adaptation to ozone. Am Rev Res Dis 140:493-501.

TEPPER J.S. y WEISS B. (1986) Determinants of behavioral response with ozone exposure. J Appl Physiol 60:868-875.

TEPPER J.L., WEISS B. y COX C. (1982) Microanalysis of ozone depression of motor activity. Tox Appl Pharmacol 64:317-326.

TEPPER J.S., WEISS B. y WOOD W.R. (1985) Alterations in behavior produced by inhaled ozone or ammonia. Fund Appl Physiol 5:1110-1118.

TEPPER J.S., WIESTER M.J., WEBER M.F. y MENACHE M.G. (1990) Measure of cardiopulmonary response in awake rats during acute exposure to near-ambient concentrations of ozone. J Appl Physiol 10:7-15.

TEPPER J.S. y WOOD R.W. (1985) Behavioral evaluation of the irritating properties of ozone. Tox Appl Pharmacol 78:404-411.

THORPY M.J. (1990) Classification and nomenclature of sleep disorders. En: Thorpy M.J. (ed.) Handbook of sleep disorders. New York: Marcel Dekker. pp. 155-178.

USEPA (1986) Air quality criteria for ozone and other photochemical oxidants. 600/8-84/020bF, Cent. Environ. Res. Cincinnati USA. II:4-1,86.

USEPA (1988) Summary of selected new information of effects of ozone on health and vegetation. EPA 600/8-88/105A, Cent. Environ. Res., Triangle Park NC 27711 pag. 1-83.

VAN BREE L., HAAGSMAN H.K., VAN GOLDE L.M.G., y ROMBOUT P.J.A. (1988) Phosphatidylcholine synthesis in isolated type II pneumocytes from ozone-exposed rats. Arch Toxicol 61:224-228.

VANNI-MERCIER G., SAKAI K., LIN J.S. y JOUVET M. (1989) Mapping of cholinceptive brainstem structures responsible for the generation of paradoxical sleep in the cat. Arch Ital Biol 127:133-164.

VILLABLANCA J. y SALINAS-CEBALLOS M.E. (1972) Sleep-wakefulness, EEG and behavioral studies of chronic cats without the thalamus: the "athalamic" cat. Arch Ital Biol 110:383-411.

VIMONT-VICARY P., JOUVET-MOUNIER D. y DELORME F. (1966) Effects EEG et comportementaux des privations de sommeil paradoxal chez le chat. Electroenceph Clin Neurophysiol 20:436-449.

VOGEL G., NEILL D., KORS D. y HAGLER M. (1990) REM sleep abnormalities in a new animal model of endogenous depression. Neurosci Biobehav Rev 14:77-83.

WATANABE S., FRANK R. y YOKOYAMA E. (1973) Acute effects of ozone on lungs of cats. I Functional. Am Rev Resp Dis 108:1141-1151.

WEISS B., FERIN J., MERIGAN W., STERN S. y COX C. (1981) Modification of rat operant behavior by ozone exposure. Tox Appl Pharmacol 58:244-251.

XINTARAS C., JOHNSON B.L., ULRICH C.E., TERRILL R.E. y SOBECKI M.F. (1966) Application of the evoked response technique in air pollution toxicology. Tox Appl Pharmacol 8:77-87.